

FACULTE MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année 1963. — N° 252

**Contribution à l'étude
de l'activité pathogène des Mycobactéries
chez la souris**

**Travail du Laboratoire de Pathologie expérimentale et du Laboratoire
de Bactériologie de la Faculté de Médecine de Lyon**

THÈSE

présentée à la

**FACULTE MIXTE de MÉDECINE et de PHARMACIE
de LYON**

et soutenue publiquement le 20 décembre 1963

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

par

M. MARTINET Jean-Paul

Elève de l'Ecole du Service de Santé Militaire

né le 7 avril 1937, à Soissons (Aisne)



LYON

**IMPRIMERIE NOUVELLE LYONNAISE
3, rue Sainte-Catherine**

1963

**Contribution à l'étude de
l'activité pathogène des Mycobactéries
chez la souris**



PERSONNEL DE LA FACULTE

Doyens honoraires : MM. J. LEPINE, Membre de l'Institut ;

H. HERMANN, Correspondant de l'Institut.

Doyen : M. J.F. CIER.

Assesseurs : MM. M. LEVRAT, L. REYOL

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. COLLET, GUIART, PATEL, LEPINE, TRILLAT, MOURIQUAND, MAZEL,
GARIN, GATE, MARTIN, GABRIELLE, SANTY, DUCLOS, GUILLEMINET,
HERMANN, ROCHET.

PROFESSEURS

Clinique urologique	MM. CIBERT
Physique biologique	PONTHUS (Beyrouth)
Clinique neuro-psychiatrique et hygiène mentale...	DECHAUME
Chimie organique et toxicologie	CHAMBON
Clinique chirurgicale B	WERTHEIMER
Clinique médicale B	PAUPERT-RAVAULT
Clinique et prophylaxie cardio-vasculaires.....	FROMENT
Clinique médicale C.....	CROIZAT
Chimie biologique et médicale.....	ENSELME
Clinique chirurgicale A	MALLET-GUY
Pharmacie galénique	REVOL
Clinique gynécologique	POLLOSSON
Clinique obstétricale	PIGEAUD
Médecine du travail.....	BOURET
Clinique médicale A	LEVRAT
Hygiène et action sanitaire et sociale.....	SOHIER
Botanique et cryptogamie	NETIEN
Clinique chirurgicale C	BERTRAND
Chimie analytique pharmaceutique.....	BADINAND
Pharmacie chimique et pharmacologie.....	DREVEN
Médecine légale et déontologie.....	ROCHE
Parasitologie et pathologie exotique.....	COUDERT
Clinique d'oto-rhino-laryngologie et d'audio-phono- logie	MOUNIER-KUHN
Clinique ophtalmologique	PAUFIQUE
Clinique de dermatologie, syphiligraphie et aller- gologie	THIERS
Clinique de pneumo-ptisiologie	BRUN
Clinique traumatologique des membres.....	CREYSSSEL Jean
Clinique carcinologique.....	DARGENT
Anatomie pathologique	GUICHARD
Pathologie générale et expérimentale.....	GIRARD Paul
Anatomie	LATARJET
Pathologie chirurgicale	PEYCELON
Thérapeutique	GIRARD Marcel
Pathologie médicale	VACHON
Physio-pathologie des voies respiratoires.....	GALY
Radiologie	PAPILLON
Clinique des maladies infectieuses	JEUNE
Hydrologie therap., climatologie et écologie sociale.	GONIN
Bactériologie	MONNET
Physiologie et pathologie obstétricales.....	BANSSILLON
Physiologie B	CHATONNET
Clinique endocrinologique	GUINET
Clinique de chirurgie orthopédique	TRILLAT
Clinique stomatologique	FREIDEL
Clinique de chirurgie et d'orthopédie infantiles....	MARION Joseph
Matière médicale et législation pharmaceutique....	DORCHE

Histologie et embryologie.....	MM. DUMONT Louis
Chimie	PERROT
Physiologie A.....	CIER J.F.
Thérapeutique chirurgicale et chirurgie opératoire	PERRIN J.
Clinique médicale infantile et hygiène du premier	
âge	X...
Biologie médicale et pharmacodynamique.....	X...

PROFESSEURS A TITRE PERSONNEL

Physique nucléaire appliquée à la médecine.....	MM. BERGER
Bactériologie	BERTOYE
Neuro-chirurgie	MANSUY
Chimie pharmaceutique.....	COLLET
Clinique de pédiatrie	SARROUY
Climatologie	LACROIX
Clinique chirurgicale propédeutique.....	LIARAS
Neuro-chirurgie	LECUIRE
Médecine générale	REVOL
Thérapeutique chirurgicale.....	GOINARD

PROFESSEURS SANS CHAIRE

Parasitologie	MM. ROMAN
Pharmacie chimique et pharmacologie.....	CIER André
Anatomie pathologique.....	FEROLDI
Physique biologique.....	MORET

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES TITULAIRES

Chimie biologique.....	MM. CREYSSEL Roger
Hygiène	THIVOLET
Parasitologie	GARIN
Electro-radiologie	PINET
Botanique et cryptogamie.....	ODDOUX
Chimie analytique.....	DE SOLLIERS
Médecine du travail.....	TOLOT
Médecine générale.....	DESPIERRES
Neuro-psychiatrie	GUYOTAT
Chirurgie générale	DESCOTES
Pathologie expérimentale	JOUVET
Physique biologique	PEYRIN
Anatomie pathologique.....	TOMMASI
Electro-radiologie	BUFFARD
Médecine générale et thérapeutique.....	LEJEUNE
Stomatologie	DE MOURGUES F.
Maladies infectieuses	NAUSSAC
Chirurgie générale	REBOUILLAT
Pédiatrie	ROMAGNY

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES STAGIAIRES

Anatomie	MM. DUROUX
Thérapeutique	BRETTE
Anatomie	BOUCHET
Hématologie	FAVRE-GILLY
Histologie et embryologie.....	GIROD
Chimie biologique.....	GRAS
Chimie analytique.....	MALLEIN
Hygiène	RIFFAT
Biologie médicale et pharmacodynamie.....	FAUCON
Physiologie	FLANDROIS
Bactériologie	VIALIER-RAYNARD

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur Paul GIRARD

Professeur de Pathologie générale et expérimentale

Il nous a fait l'honneur d'accepter de présider notre thèse.

Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de notre respectueuse gratitude.

A NOS JUGES

Monsieur le Professeur MONNET

Monsieur le Professeur BERTOYE

Nous les remercions de l'honneur qu'ils ont bien voulu nous faire en acceptant de nous juger.

Monsieur le Professeur agrégé VIALLIER-RAYNARD

Il a bien voulu nous confier le sujet de cette thèse, et nous a guidé à chaque instant dans l'élaboration de ce travail en nous accueillant toujours avec la plus grande bienveillance.

Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de notre vive gratitude et de notre profonde reconnaissance.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

HISTORIQUE

La souris est utilisée depuis très longtemps comme animal réactif des mycobactéries.

En effet, c'est Robert KOCH (74) qui, le premier, dès 1884, dans un article intitulé : « Die Aetiologie der Tuberkulose » constate que la souris est très résistante à la tuberculose, maladie qui, selon cet auteur, affecte chez ce rongeur une forme chronique. Cette idée dominera, dès lors, toutes les études entreprises durant la première moitié de ce siècle sur l'infection tuberculeuse expérimentale. R. KOCH nuance pourtant sa pensée en indiquant que la souris grise lui paraissait plus réceptive à la tuberculose que la souris blanche.

En 1895, STRAUSS (134) démontre que la souris inoculée par voie sous-cutanée peut mourir après quelques semaines ou plusieurs mois, sans tubercules apparents dans les viscères, sans lésions nodulaires dans le poumon, mais avec des organes fourmillant de bacilles.

La voie d'inoculation intra-péritonéale fut utilisée pour la première fois, chez la souris, par ROMER (118), en 1903. Cet auteur conclut qu'il faut des doses élevées de cultures (1 mg à 1 cg) pour produire chez ces petits rongeurs une maladie qui affecte une forme chronique mais avec multiplication extraordinaire des bacilles dans tous les organes. Il démontre, d'autre part, qu'une dose de 10 mg de bacilles bovins entraîne la mort de la souris en 6 à 9 jours, la dose de 2,5 mg par la même voie, la tue en 4 semaines. Déjà s'amorce la conception d'une virulence plus grande du bacille bovin pour la souris.

Mais la même année, DE JONG (24) au II^e Congrès international d'Hygiène et de Dermatologie de Bruxelles, déclare que le bacille aviaire serait le seul type de bacille rencontré comme agent de la tuberculose spontanée de la souris. Le bacille aviaire paraît le plus virulent des bacilles tuberculeux pour cet animal.

Ce dernier résultat fut confirmé en 1904 par WEBER et BOFINGER (147) qui étudient la tuberculose, maladie naturelle de la souris grise et montrent qu'il s'agit d'une tuberculose due à un bacille

de la rate qui, même lorsqu'elle est apparemment saine, est souvent d'une richesse extraordinaire en bacilles libres et certains frottis ont, à l'examen microscopique, l'aspect de colonies étalées. Les ganglions peuvent subir une dégénérescence caséuse. Ils utilisèrent également l'infection de la souris par voie digestive avec le bacille aviaire, bovin et humain. BOQUET et NÈGRE montrent à cette occasion que s'il existe une atteinte du foie, on n'y retrouve que des bacilles ayant perdu leur acidorésistance. Dans ce même article, ces auteurs confirment la virulence plus élevée du bacille bovin pour la souris inoculée par voie veineuse. Ils concluent de plus qu'il n'existe pas d'infection de la souris par le bacille pisciaire ou le bacille homogène d'ARLOING. Mais de leurs expériences, il résulte : « Que les souris blanches sont trop peu sensibles à la tuberculose expérimentale pour servir utilement à la recherche du bacille tuberculeux dans les produits suspects. Les souris ne succombent qu'exceptionnellement, les lésions n'apparaissent que tardivement. Pratiquée moins de deux mois après l'inoculation, l'autopsie ne fournit que des renseignements négatifs, l'examen macroscopique doit toujours être complété par l'examen microscopique des frottis d'organes, principalement du foie, de la rate et des poumons. »

Bruno LANGE (77), en 1922, puis en 1930 (78), reste fidèle à l'idée de la souris résistante à la tuberculose. Il écrit, en effet, que si les souches de laboratoire conservent une certaine virulence pour le cobaye et le lapin, elles se montrent parfois très peu pathogènes pour la souris. Il constate aussi une certaine différence entre la virulence du bacille bovin et du bacille humain pour la souris, mais il conclut que celle-ci n'est pas assez prononcée pour permettre de distinguer les deux types de bacilles. Ces conclusions sont confirmées par BROWNING et GULBRANSEN (17).

A. HERMET-HALSWICK (63) fait état de tuberculose spontanée chez la souris due au bacille aviaire. A. SAENZ et L. COSTIL (120), également en 1934, constatent que les bacilles aviaires de la variante R ne sont plus virulents pour la souris, tandis que les variantes S correspondantes sont encore pathogènes. FD. GUN et WS. NUNGESTER et ET. HOUGEN (59), étudièrent le rapport entre la dose de bacilles inoculés en injection intrapéritonéale et le temps de survie de la souris. ER. LONG (81) note que la souris tuberculeuse présente une évidente tendance à la guérison.

A partir de 1937, on s'attache à trouver de nouvelles voies

d'inoculation. Tout d'abord, H. SCHWABACHER - GS WILSON (122) utilisent la voie aérogène par inhalation. AW. SELLARDS et H. PINKERTONE (123) emploient la voie cérébrospinale pour obtenir une infection bacillaire chez la souris blanche. SMITHBURN (126) et R. BEQUIGNON (5) obtiennent une tuberculose pulmonaire évolutive chez ce même animal par inoculation intracérébrale.

En 1939, N. STAMATIN et Mme L. STAMATIN (130-131) faisant une mise au point des différentes acquisitions du début du siècle concernant la tuberculose expérimentale de la souris, rappellent les résultats de leurs travaux personnels sur ce sujet. Ils concluent : « La souris blanche est assez résistante à l'infection tuberculeuse, mais si les faibles doses 10^{-5} mg de bacilles ne produisaient jamais une maladie à évolution rapide et mortelle, les doses plus fortes de l'ordre de 0,01 à 0,1 mg entraînent régulièrement la mort. Les souches humaines non virulentes pour le cobaye ne le sont pas non plus pour la souris, mais les souches humaines virulentes ne se comportent pas toujours de la même façon chez le cobaye et la souris. » Les souches bovines sont à la fois virulentes pour le cobaye et la souris et le titrage de la virulence des souches bovines sur la souris est possible. Les souches aviaires sont virulentes pour la souris mais donnent une maladie longue et les lésions macroscopiques n'apparaissent que lorsque la maladie évolue déjà depuis au moins deux mois. Les inoculations à la souris permettent de préciser si une souche est de type aviaire. L'évolution de la maladie et les lésions produites sont suffisamment caractéristiques pour permettre de conclure à la nature bovine ou humaine de la souche. Les souches bovines donnent des lésions évolutives après inoculation d'une dose faible dans les mêmes conditions, une souche humaine ne donne que des lésions minimales. Walter PAGEL (104), étudiant la tuberculose expérimentale de la souris blanche ou grise, affirme que la résistance de certains hôtes au bacille tuberculeux, lui apparaît comme une notion inexacte.

Durant cette même période, paraissent de nombreuses études sur l'immunité acquise de la souris blanche. BESTA et LENNEBERG (7), en 1935, pour la première fois, traitent du problème de la résistance naturelle élevée de certaines espèces animales en rapport avec la possibilité d'acquérir une immunisation lente mais plus solide. Leurs expériences ne furent point concluantes du fait d'une surinfection exogène par typhi-murium qui détruit

un grand nombre d'animaux d'expérience. SCHWABACHER et WILSON (121), en 1937, sans d'ailleurs faire état des expériences précédentes, utilisèrent la souris blanche pour mesurer l'immunité conférée par différents types de vaccins à base de BCG ou de bacilles tués par la chaleur. Ils réalisèrent leurs expériences sur des souris blanches et grises inoculées par voie intraveineuse ou par inhalation et ces auteurs concluent : « La souris peut être utilisée de façon intéressante pour la recherche de la valeur des vaccins antituberculeux ». Mais cette conclusion est combattue dès 1937 par OPIE et FREUND (103) qui jugent l'utilisation de la souris comme animal test de la valeur des vaccins antituberculeux inopportune. Toutefois, ces mêmes auteurs, deux ans plus tard, écrivent : « Il paraît intéressant de revoir à travers des études nouvelles certaines questions concernant l'immunité ainsi que la résistance élevée de certaines espèces animales, vis-à-vis du bacille tuberculeux ». Au cours d'expériences d'immunisation par le bacille tué sur la souris blanche, ils notèrent, lors des examens microscopiques, certains signes d'une immunité acquise se traduisant par une destruction importante de bacilles.

Cette question de l'immunité acquise de la souris blanche va particulièrement intéresser les chercheurs entre 1937 et 1939. En Italie, BENZONI (4) utilise la souris comme animal test pour s'assurer de la validité des vaccinations antituberculeuses. Ces mêmes essais furent repris et complétés par BATTIGNANI et CIACCIA (2) qui démontrent que la vaccination par BCG, d'une part, par bacille tué, d'autre part, inoculée par voie sous-cutanée, entraînait un accroissement considérable du temps de survie des souris infectées ultérieurement.

En France, TROISIER et SIFFERLEN (141) ont relaté des résultats intéressants et précis quant au sort du BCG inoculé à la souris par voie respiratoire. Ils établissent une relation entre le sexe et l'évolution de la tuberculose expérimentale chez la souris et, dès 1946, AR. MARTIN (90) traite un certain nombre de souris tuberculisées par différentes substances chimiques et entreprend de les classer selon leurs activités vis-à-vis du bacille tuberculeux chez cet animal.

L'ensemble des études précédentes seront reprises et confirmées par SWEDBERG et WIDSTROM au Congrès International de Microbiologie de Copenhague, en 1947 (135) (137).

Durant la même période, J.C. LEVADITI, A. VAISMAN et P. LÉVY (80) étudient l'action de divers antibiotiques — streptomycine, dihydrostreptomycine, PAS. — chez la souris tuberculisée; ils effectuent des examens anatomopathologiques et notent la richesse des viscères en bacilles.

Ces mêmes auteurs, toujours par cette méthode anatomobactériologique, étudièrent également l'action et le devenir du BCG chez la souris. Ils découvrirent ainsi un certain nombre de données intéressantes relatives aux particularités de l'évolution de cette tuberculose conférée par le BCG à la souris, décrivant des altérations anatomopathologiques radicalement différentes de celles produites par le mycobactérium tuberculosis virulent et caractérisé par l'existence de granulomes périspléniques et périhépatiques, riches en BCG — semblant constituer un dépôt antigénique capable de remplir un rôle essentiel dans la création de l'état réfractaire antituberculeux.

On voit ici apparaître l'ébauche, sur un cas particulier, le BCG, d'une nouvelle méthode expérimentale relative à l'infection tuberculeuse chez la souris, méthode qui dominera les études de ces dix dernières années.

SIEBENMAN (125), en 1951, évalue, par un examen microscopique direct, le nombre de bacilles présents dans les organes : poumons, foie, rate des souris infectées, ce qui lui permet de comparer la virulence différente des bacilles tuberculeux chez les souris vaccinées et non immunisées.

Cette méthode de numération bacillaire sur organes prélevés de souris infectées fut reprise et améliorée par PIERCE et DUBOS et SCHAEFER (110) qui établissent également une relation entre la virulence et le nombre des bacilles présents dans les organes des animaux infectés. Ces auteurs distinguent trois catégories de bacilles :

— Les bacilles avirulents : incapables de se multiplier in vivo bien qu'ils puissent survivre durant de nombreuses semaines dans les tissus de la souris;

— Les bacilles atténués : capables de se multiplier in vivo, mais donnant naissance à une maladie abortive, l'atténuation étant plus ou moins importante;

— Les bacilles virulents : capables de produire une maladie chronique et évolutive et dont le taux maximum de bacilles

vivants atteint dans la rate et les poumons se trouverait être une expression directe de la virulence de la souche.

Reprenant les études sur l'immunité acquise de la souris avec le bacille tuberculeux atténué, ces mêmes auteurs (111) mesurent le taux d'immunité produite grâce au BCG, par l'accroissement du temps de survie des animaux vaccinés puis infectés avec une dose virulente de bacilles et par la différence dans le nombre de bacilles vivants retrouvés dans les rates et les poumons des animaux, vaccinés et normaux, mais infectés avec de petites doses de bacilles virulents. Ces auteurs concluent à l'existence d'une relation entre le taux d'immunité induite et l'importance de la multiplication in vivo des bacilles vaccinaux (111). Il serait même possible de retarder la multiplication des bacilles utilisés comme vaccin par la mise en œuvre d'un traitement des souris par l'INH (112).

Ces nouvelles techniques d'étude de la tuberculose expérimentale utilisant la souris seront perfectionnées et reconnues comme valables par NOUFFLARD et BERTEAUX (101). Ils pratiquent une étude comparée des résultats donnés par l'inoculation à la souris avec les méthodes classiques d'inoculation au cobaye et de cultures sur Löwenstein. Ils concluent : « La fidélité de l'inoculation à la souris nous paraît satisfaisante ».

D'autre part, NOUFFLARD et BERTEAUX (101) (102) utilisent les procédés de la culture sur lame de frottis de rates de souris infectées pour apprécier la sensibilité des germes aux antibiotiques et pour étudier le devenir et la sélection des germes sensibles et résistants à l'INH.

Les conclusions de ces expériences mettant en évidence la possibilité de l'utilisation de la souris pour le diagnostic de la tuberculose, paraissent toutefois en contradiction avec celles obtenues par A. MILZER et ER. LEVINES (95), huit ans auparavant, ils avaient décrit un test souris dans le diagnostic de la tuberculose, les résultats n'en furent pas concluants car le pourcentage de résultats positifs fut très inférieur à ceux obtenus alors par les méthodes classiques d'inoculation au cobaye et de cultures. Toutefois, la méthode utilisée était différente. Depuis la découverte de la méthode de culture sur lame, des améliorations notables furent apportées par divers auteurs. GALE, DE VESTY et JACK (40) obtiennent de meilleurs résultats en ajoutant à l'inoculat de la mucine gastrique de porc. Ils proposent ce procédé comme une

possibilité de diagnostic de la tuberculose. Ce procédé paraît extrêmement rapide, puisque les conclusions peuvent être données en 5 jours contre 46 que nécessitaient les méthodes usuelles; et les auteurs font état de statistiques selon lesquelles le procédé serait même plus sensible que les cultures.

Enfin, BRANDENBURG (15) accélère la formation des foyers tuberculeux chez la souris par la cortisone.

Depuis une dizaine d'années environ, les différents chercheurs ont utilisé la souris en tant qu'animal de laboratoire pour tenter de mieux cerner le problème de la virulence des souches de bacilles tuberculeux résistants à l'Isoniazide. Mais les conclusions de ces différents auteurs ne sont pas toutes concordantes. Si GRUNBERG (51), en 1952, constate que les bacilles isoniazidorésistants sont incapables de produire une maladie évolutive chez la souris. D'autres auteurs, dès 1953 : BARNETT (3) et HOBBY (66), puis en 1954, HIRSCH (64-65), KARLSON (70), GOULDING (50), MORSE (98), BLOCH (43), WIDELock (148), admettent que s'il existe une différence dans la virulence entre les souches de bacilles résistantes et sensibles, cette dernière n'est que minime. En France, RIST, GRUMBACH (117), NOUFFLARD (99-100), LEJOURBIOUX (79), GERNEZ-RIEUX (45-46) confirment ces dernières conclusions. De plus, GERNEZ-RIEUX, d'une part, et WIDELock (141), d'autre part, observent que les souches INH résistantes conservent une virulence assez forte pour la souris, contrairement à ce que l'on observe chez le cobaye. On comprend alors tout l'intérêt que va présenter la souris dans l'étude de la virulence des souches INH résistantes.

Si BRANCH (14), dès 1933, décrit des lésions de type abcès chez la souris inoculée par des mycobactéries atypiques, si HAUDUROY (61) rappelle les inoculations nombreuses de la souris par bacilles paratuberculeux réalisées par différents auteurs (BALDWIN, BINOT, BOQUET, CZAPLEWSKI, SAENZ) ce n'est que depuis 1954 environ que sont apparues, grâce aux essais de classification de RUNYON, des conclusions plus précises quant à la virulence de ces mycobactéries pour la souris. POLLAK et BUHLER (113), en 1955, observent, d'une part, l'avirulence de ces mycobactéries atypiques pour le cobaye et, d'autre part, la possibilité d'obtenir une maladie évolutive chez la souris et le rat. FENNER (37-38) propose même d'utiliser l'inoculation de la patte de la souris comme test diagnostique des mycobactéries ulcerans et balnei, il étudie l'immunité antitu-

berculeuse acquise par cet animal grâce à l'inoculation de différentes mycobactéries atypiques.

Enfin KUSHNER (76), SHRILEY, FELDMANN (36) aux Etats-Unis et GRUMBACH (56), GERNEZ-RIEUX (47) en France étudièrent la virulence des différentes mycobactéries atypiques en se basant sur la classification de RUNYON.

CHAPITRE PREMIER

LA SOURIS, ANIMAL DE LABORATOIRE

La souris, comme nous avons pu le constater précédemment, représente un animal de laboratoire utile pour la réalisation d'une tuberculose expérimentale.

En réalité, toute souris ne réagit pas de la même façon à l'inoculation de bacilles tuberculeux. Consacrons quelques lignes à la sensibilité à la tuberculose de quelques races de souris.

A) LES RACES DE SOURIS SELECTIONNEES

Beaucoup de souris utilisées autrefois dans les laboratoires présentaient une résistance certaine au bacille de Koch alors qu'elles étaient par ailleurs très sensibles à différentes épizooties qui décimaient les chenils. On se rappellera, à ce sujet, les expériences de BESTA et LENNEBERG (7), les animaux qu'ils utilisaient moururent d'une épidémie de typhi-murium. Cet inconvénient majeur, ainsi que la résistance naturelle de l'animal à la tuberculisation, purent être évités dès la découverte des « Races Sélectionnées ».

Ch. NICOLLE écrivait : « Ces procédés modernes de sélection des animaux sont des éléments essentiels dont l'ignorance a bien souvent provoqué des échecs expérimentaux inexplicables ».

Les souris, obtenues après opération sélective, voient, d'une part, augmenter leur immunité naturelle, deviennent hyperrésistantes à certains germes qui faisaient des ravages dans les élevages (typhi-murium et diplococcus-pneumonia) et en même temps acquièrent une grande sensibilité à certaines affections : la tuberculose expérimentale.

Depuis une quinzaine d'années, de nombreux biologistes américains ont étudié et obtenu des lignées sélectionnées par le pro-

cédé de consanguinité dit « imbreeding » basé sur les calculs de WRIGHT qui démontrent qu'après 30 ou 40 générations « imbred » la disparition des hétérozygotes est totale. Les croisements doivent avoir lieu entre mâles et femelles de la même portée, durant les générations successives. De cette façon, on obtient des lignées possédant un caractère type qui l'identifie et lui confère une qualité expérimentale intrinsèque. Ainsi, une lignée de race « Swiss » obtenue par WEBSTER était résistante à *S. typhi-murium* et par contre sensible à l'infection tuberculeuse.

SWEDBERG (135) a écrit : « La souris blanche fut choisie pour les expériences, du fait que l'on peut l'obtenir plus aisément, en grande quantité et à partir d'une souche homogène et naturelle ». Ainsi, depuis l'apparition des lignées sélectives de souris, on utilise, pour réaliser l'infection tuberculeuse expérimentale, les souris grises et blanches sélectionnées et la souris devient un animal de choix pour réaliser de nombreuses recherches expérimentales sur les divers problèmes posés par la tuberculose.

Les premières lignées de souris sélectionnées utilisées dans ce but provenaient de mutants de la lignée — C 57 —. Elles furent étudiées par CC LITTLE, qui découvrit plusieurs sous-lignées :

C 57 - Noire A

C 57 - Noire T

C 57 Brune

DBAO Beige (delute brown agouti original)

DBAS Brune (delute brown agouti substrain)

toutes ces lignées furent largement utilisées par les auteurs américains.

En France, on se servit surtout des souris blanches au cours des études sur la tuberculose expérimentale, en particulier des souches SW (souris dites « Swiss ») car importées de Lausanne par Clara Y LYNCH, en 1926, et élevées à l'Institut Rockefeller.

Actuellement, dans les différents laboratoires, s'intéressant aux problèmes de la tuberculose expérimentale, on s'efforce d'utiliser les lignées de souris sélectionnées spécialement pour leur sensibilité à la tuberculose, elle doit être, par ailleurs, stable et régulière. Le choix est assez grand puisque l'on peut utiliser environ 20 souches de souris classées par DOXOVICK (27) et ses collaborateurs, ainsi que par PIERCE (108) suivant un ordre de sensibilité croissante à l'infection tuberculeuse : Swiss albino, CFW et CFCW, Strong A

et C, Buffalo CF1, ML, Brown spot, chocolate, C3HC, Strong I, C57 Black et DBA line I.

Au laboratoire de la Faculté sont utilisées les souches ML, Swiss et PS, souches de souris sélectionnées sur lesquelles seront effectuées les différentes expériences décrites dans ce travail.

B) LES MODALITES DE REPRODUCTION DE LA SOURIS

Si l'obtention de nombreuses lignées est relativement facile, cela est essentiellement dû aux capacités de reproduction extraordinaire que présentent les souris.

La souris est fécondable dès l'âge de 3 mois, mais il vaut mieux attendre le 4^e mois, les portées sont ainsi plus nombreuses et plus vigoureuses.

La gestation dure environ 19 à 20 jours durant lesquels la souris doit être isolée. Les portées sont importantes : 10 à 12 souriceaux. WESBTER propose de limiter ce nombre à 6 ou 8 souriceaux pour obtenir des animaux plus vigoureux. Comme la durée de vie d'une souris est de 2 ans et que celle-ci peut se reproduire 3 ou 4 fois par an et enfin que l'animal peut être utilisé à des fins expérimentales dès 3 ou 4 semaines, on conçoit très bien l'intérêt que présente cet animal.

C) LE LOGEMENT DE LA SOURIS

L'élevage de la souris est relativement facile. On peut aisément installer un chenil à souris dans une pièce de laboratoire. Celui-ci sera en général très simple et petit ($3 \times 2 \times 2,5$) et ne nécessitera aucune transformation particulière, si ce n'est une ventilation convenable, car l'odeur des souris est relativement forte, et surtout un chauffage en hiver maintenant une température de 20 à 22° ce qui diminue les risques importants d'infections virales et bactériennes, pulmonaires, auxquelles ces petits rongeurs sont très sensibles. La souris craignant la lumière, on installera ce chenil dans un local sombre ou à lumière tamisée. Il est intéressant aussi de posséder des installations sanitaires simples mais indispensables : évier pour laver les bocal, les cages et vidoir à l'occasion, pour évacuer le contenu des cages à l'égout, atténuant ainsi les odeurs dues aux éjectats de la souris.

De nombreux modèles de cages et bocal ont été proposés pour

élever les souris; nous n'en citerons que quelques-uns qui nous paraissent les plus intéressants.

Les caisses en bois seront très utiles pour l'élevage des souris destinées à la reproduction. Ces caisses, en forme de parallélépipède, seront constituées de bois dur de façon à éviter que l'animal n'en perfore les parois. De plus on pourra fermer la face supérieure de ces caisses par un treillage ou une plaque perforée, le fond étant constitué d'une plaque de fibrociment (permettant le nettoyage et évitant la détérioration de la caisse); mais l'observation de l'animal dans son milieu est difficile par ce procédé qui, par ailleurs, présente l'avantage d'être sombre; c'est pourquoi, pour étudier l'animal d'expérience on préférera les bocaux à souris utilisés d'ailleurs par PIERCE (108) et SOLOTOROWSKY et col. (128), puis par PANISSET et SWEDBERG (105-110-135). J. DUMAS (33) et MEUNIER (91) en France, proposèrent l'emploi de bocaux de verre cylindriques, type pot de mayonnaise ou à conserves, ou encore cubiques, servant à la distribution de produits de nettoyage, de capacité variable : 2 à 3 litres, mais toujours relativement hauts : 0,30 mètre pour empêcher l'animal de s'enfuir. Ces bocaux sont recouverts par divers systèmes de fermetures permettant une aération convenable. J. DUMAS (33) propose le système du couvercle grillagé avec porte-étiquette; c'est ce procédé de fermeture qui paraît le plus employé dans les laboratoires français. Mais les auteurs anglo-saxons (105-110-128-135) décrivent un système plus complexe constitué d'un couvercle muni d'une ouverture de 8 cm de diamètre sur laquelle s'adapte soit un disque de cellulose filtre (Johnson & Johnson, rapid floco, filter A D) ou encore un tube de toile métallique obturé par un bouchon de coton.

Quoiqu'il en soit, ces bocaux de verre présentent de grands avantages, ils permettent tout d'abord l'observation facile des animaux d'expériences et, d'autre part, ils sont faciles à manipuler, on peut les placer dans une armoire étuve, ventilée et chauffée l'hiver, évitant ainsi les affections broncho-pulmonaires qui sont la principale cause de mortalité chez ces animaux. Ils peuvent être facilement nettoyés par un mélange d'eau de javel dilué à 1 % dans l'eau et placés dans une pièce irradiée par des lampes à ultra-violet, selon PIERCE, DUBOS et MIDDLEBROOK (108-109) on évite ainsi les surinfections exogènes lors de manipulations au cours des expériences.

Les laboratoires équipés (108) utilisent des cages métalliques, soit simples, soit dites à nettoyage automatique ou à deux compartiments. Ce dernier procédé présente l'avantage d'éviter la souillure de l'habitation et de la nourriture par les matières fécales et les urines, celles-ci étant collectées par le plateau situé sous le double fond grillagé. La nourriture est déposée dans une boîte en métal accrochée à la cage. Toutefois l'observation des animaux est ici difficile et l'entretien plus délicat. Enfin, rappelons l'ancien système des pots de faïence, type vase de nuit, dont on peut encore se servir pour élever les souris.

Les litières généralement utilisées sont très diverses et très simplement constituées : soit de tourbe, de paille hachée, de copeaux, de sciure ou de frisure de bois, parfois mélangées avec des grains d'avoine qui servent également de nourriture. De nombreux auteurs dont : DUMAS (33), MEUNIER (91), PANISSET (105) et SOLOTOROWSKY (128) proposent de renouveler cette litière deux fois par semaine.

B) LES PROBLEMES DE LA NOURRITURE

La nourriture des souris pose peu de problèmes, car elle est constituée essentiellement par du blé, de l'avoine, du lait, du pain mouillé, des épluchures de salade, de betteraves, de carottes dont ces animaux sont friands. La nourriture est peu coûteuse. Mais DUBOS (28-29) et SWEDBERG (135) ayant émis l'hypothèse que la nutrition modifiait la sensibilité de la souris à la tuberculose, il nous paraît intéressant d'approfondir quelque peu ce problème d'autant plus que depuis l'utilisation des races de souris sélectionnées, de nombreux laboratoires ont mis au point des formules de comprimés préfabriqués, répondant exactement aux exigences des animaux sélectionnés. Les Laboratoires Jackson, de Philadelphie, élèvent les plus importantes lignées pures de souris, en nourrissant leurs animaux uniquement avec la « Provende de Purina — Laboratory chow — ». En France, des Sociétés ont commercialisé des variétés de provende pour la souris, ce sont de petits cubes comprimés d'un calibre de 15 mm que l'on distribue dans les râteliers. Les souris ne sont pas ainsi exposées aux variations quotidiennes et saisonnières. Il est possible d'obtenir, de cette façon, une standardisation des animaux. On pourra également utiliser diverses sortes de biscuits destinés à l'alimentation des souris, présentant tous une composition semblable quant aux

éléments essentiels. Au laboratoire de la Faculté de Médecine, nous utilisons ces biscuits.

Le problème de l'apport hydrique est souvent résolu de façon originale par des distributeurs d'eau, tous basés sur le même système. Celui-ci est constitué par un tube fin relié à un réservoir variable suivant les cas, on pourra ainsi, comme PANISSET-BENOIT (105) et DUMAS (33), employer une petite bouteille de 125 cc dont le bouchon est traversé par une baguette de verre creuse ou encore plus simplement le dispositif de PONCELLE, de fabrication facile, car uniquement réalisé avec un tube à essais dont le fond est percé d'un trou de 2 à 4 mm de diamètre et dont l'autre extrémité est obstruée par un bouchon de caoutchouc de préférence, la souris rongean le liège. Un procédé courant consiste à utiliser un ballonnet dont le fond est prolongé par une baguette de verre creuse, la partie supérieure fermée par un bouchon. Les animaux s'abreuvent en venant lécher l'orifice des tubes de verre. Ces divers distributeurs sont fixés ou encore suspendus dans les cages ou les bocal en introduisant le tube capillaire dans les orifices des couvercles destinés à cet usage ou dans les mailles du grillage servant de couvercle. Nous verrons que ce système peut servir à provoquer une inoculation de bacilles tuberculeux par ingestion.

E) LE MARQUAGE DES ANIMAUX

Pour reconnaître les animaux inoculés, on pourra faire appel à la marque métallique constituée par une agrafe fixée à l'oreille de la souris portant un numéro. Mais cette plaque, si elle est mal adaptée, pourra entraîner une nécrose des tissus et la perte de cette marque. Chez la souris blanche, on pourra aisément utiliser le procédé de la coloration du pelage par le bleu de méthylène, le violet de gentiane, la fuchsine phéniquée ou l'acide pierique. Enfin, on préfère souvent faire appel à une méthode plus simple, qui consiste à pratiquer une fente au niveau d'une oreille de l'animal inoculé et de fixer ensuite une étiquette sur le couvercle du bocal contenant les animaux. Il est possible aussi de pratiquer une incision au niveau des deux oreilles ou encore de sectionner une partie de la queue de l'animal à des fins de marquage.

F) LE PROBLEME DE LA CONTENTION

La préhension de la souris, ainsi que sa contention n'offrent que peu de difficulté, la souris étant un animal très doux. On

peut la saisir par l'extrémité de la queue et la poser sur un plan rugueux où elle s'accroche avec ses griffes, on prend alors, entre les mors d'une pince de Péan ou à forceipressure, la peau de la nuque de l'animal que l'on accroche alors par un des anneaux de la pince; la queue et une patte postérieure étant maintenues entre deux doigts, on peut facilement pratiquer une inoculation. On a évidemment proposé des appareils plus complexes mais qui ne présentent que peu d'intérêt étant donné la facilité de manipulation de cet animal.

Ainsi, la souris, par toutes les possibilités de reproduction et d'élevage qu'elle nous offre, représente un animal de choix pour l'étude *in vivo* du pouvoir pathogène des bacilles tuberculeux. Elle apparaît, d'autre part, comme l'un des animaux de laboratoire les moins difficiles à obtenir, à élever et à manipuler. Son prix de revient est intéressant. L'alimentation est standardisée, ce qui permet d'éviter les erreurs expérimentales dues à des facteurs exogènes : milieu, alimentation, surinfection. Actuellement, en utilisant des races de souris sélectionnées pour une grande sensibilité, stable et régulière à la tuberculose et en veillant à la bonne tenue d'un élevage on pourra obtenir des résultats plus précis et plus nombreux, permettant des études statistiques.

CHAPITRE II

LA TUBERCULOSE EXPÉRIMENTALE DE LA SOURIS

Les études de la tuberculose expérimentale de la souris posent un certain nombre de problèmes; si l'usage de races sélectionnées de souris a simplifié les difficultés, les résultats expérimentaux des inoculations n'en sont pas moins différents suivant les voies d'inoculation choisies, la nature du bacille infectant et l'adjonction de substances adjuvantes modifiant l'évolution de la maladie expérimentale. Il nous a donc paru intéressant de comparer les divers avantages des différentes voies d'inoculation utilisables chez la souris et de chercher à pratiquer un choix en fonction des résultats obtenus. Ensuite, nous étudierons la virulence des différentes souches de bacilles tuberculeux de type humain et bovin, ainsi que l'action et l'intérêt que présentent les substances adjuvantes dans la réalisation d'une tuberculose de la souris. Enfin, après avoir recherché et décrit l'action pathogène du bacille de Koch dans cette tuberculose expérimentale, nous présenterons les résultats des travaux effectués au laboratoire avec une souche bovine inoculée à la souris.

A) LES VOIES D'INOCULATION

Différentes voies d'inoculation peuvent être utilisées pour réaliser l'infection tuberculeuse chez la souris, mais elles ne présentent pas toutes la même valeur. Les résultats obtenus sont parfois différents suivant la voie d'infection utilisée. Nous étudierons les principales :

1° *La voie cutanée* : L'inoculation intradermique peut être effectuée dans le coussinet plantaire ou dans la queue: la quantité de liquide injectable est faible, 0,1 ml. L'usage de cette voie d'inoculation fut l'objet de nombreuses discussions et très diver-

sement apprécié; en effet, la souris paraît peu sensible à l'inoculation intracutanée de bacilles tuberculeux et cette voie paraît peu utilisable dans le cadre d'une étude de l'infection tuberculeuse chez la souris;

2° *La voie sous-cutanée* : On peut injecter, par voie sous-cutanée, jusqu'à 1 ml d'une émulsion bacillaire en inoculant l'animal sous la peau du dos ou de la cuisse, ceci est réalisable très aisément; en général, on utilise $1/2\text{ cm}^3$ de culture comme le préconisent PIERCE et DUBOS (108). Cette voie d'inoculation fut la première utilisée dès 1895 par STRAUSS (134), puis par ROMER (118) et BOFINGER (147) qui réussissent à tuberculiser la souris; BRANDENBURG (15) étudia l'évolution d'un abcès tuberculeux ainsi obtenu. Cette voie d'inoculation n'est cependant pas toujours satisfaisante, au cours de nombreux essais, les souris se sont montrées très résistantes à cette méthode d'infection. S'il est possible de réaliser une tuberculose expérimentale de la souris par cette voie, il faut reconnaître qu'elle paraît beaucoup moins intéressante que les autres, comme le soulignent GRIFFITH (54), BOQUET (10) et PIERCE (108);

3° *La voie intracornéenne* : Reprenant les études de REES et ROBSON (116), GOULDING et ses col. (50) utilisent la voie intracornéenne pour introduire des bacilles tuberculeux izonizido-résistants chez la souris. Selon ces auteurs, cette voie d'inoculation donnerait de bons résultats;

4° *La voie digestive* : De nombreuses tuberculoses, à la suite d'infection de la souris par voie digestive, furent réalisées par WEBER (146), BOFINGER (147), GRIFFITH (54), BOQUET et NÈGRE (10) en faisant ingérer à l'animal des aliments mélangés à du bacille bovin ou du lait additionné d'organes tuberculeux. On pourra, à cet effet, utiliser une canule introduite directement dans l'estomac de l'animal. Selon BOQUET et NÈGRE (10) ce procédé permet d'obtenir une infection tuberculeuse abdominale avec de nombreux ganglions mésentériques et des lésions hépatiques, rénales et spléniques souvent minimales, mais très riches en bacilles; toutefois, la durée de l'infection très longue est un obstacle à l'utilisation fréquente de cette voie. Au laboratoire, une étude de l'infection par ingestion fut réalisée en ajoutant à 30 cm^3 d'eau des biberons, une quantité donnée de bacilles tuberculeux et de mycobactéries atypiques; le distributeur d'eau est laissé en place trois jours, les souris, venant étancher leur soif, ingèrent ainsi

les bacilles, mais la dose inoculée est très irrégulière du fait de la décantation des produits pathologiques et de la diminution de la teneur des bacilles dans les biberons avec le temps; d'autre part, l'ingestion est différente suivant la soif des souris considérées et cette voie d'inoculation nous paraît donc peu intéressante;

5° *La voie aérogène* : La voie d'inoculation par inhalation ou instillation paraît plus aisément utilisable. Le procédé de BURNET et TIMMINS de l'instillation nasale au début d'une anesthésie chez la souris permet facilement la réalisation de l'infection tuberculeuse par voie aérogène. Il suffit d'anesthésier l'animal en plaçant dans un bocal un coton imbibé d'éther, on instillera ensuite à l'aide d'une seringue dans chacune des deux narines de ce rongeur quelques gouttes de produits tuberculeux : lors de la première inspiration, le bacille tuberculeux pénètre dans les voies respiratoires supérieures. Cette méthode d'inoculation fut préconisée et utilisée par GLOVER (49) et par TROISIER (141). La pulvérisation d'aérosols de bacilles donnerait de meilleurs résultats selon DONOVICK (27) et, enfin, l'infection par air naissant à l'aide d'appareils divers permet à MIDDLEBROOK (92) et GRAY (53) d'obtenir une atteinte pulmonaire tuberculeuse avec des doses données de cultures et pour un temps donné d'exposition au bacille. Ces méthodes d'inoculation de bacilles tuberculeux furent surtout utilisées par les auteurs anglo-saxons, tels que COHN, KOWITZ et MIDDLEBROOK (22). GRAY et MATTINSON (53) affirment que la souris C-57 inoculée par voie intranasale et maintenue à un niveau de nutrition bas semble être un peu plus sensible aux doses seuils que ne l'est le cobaye inoculé par voie intramusculaire. Mais cette voie nécessite un matériel trop important bien souvent pour les résultats qu'elle apporte. Toutefois, si cette voie d'inoculation reste intéressante dans le cadre des études d'exposition au bacille tuberculeux comparé à l'importance de la maladie expérimentale, elle reste, selon DONOVICK et ses col. (27), une méthode trop dangereuse pour être utilisée lors de travaux expérimentaux, étant donné les possibilités de dissémination des bacilles, même dans des salles spécialement aménagées avec air conditionné et travaux sous hottes à ultra-violet;

6° *La voie intrapéritonéale* : Selon BOQUET et NÈGRE (10), la voie intrapéritonéale serait la voie d'inoculation la plus sûre, la souris serait très sensible à ce mode d'inoculation. Deux tech-

niques peuvent être employées, l'une en un temps, mais délicate, car on risque de perforer une anse intestinale, l'autre en deux temps, plus généralement employée. On peut ainsi injecter à la souris jusqu'à 2 cc. Cette voie d'inoculation fut utilisée par de très nombreux auteurs : GRIFFITH (54), WEBER (146), BOFINGER (147), MILZER et LEVINES (95-96), GALE, DE VESTY et JACK (40) et BOQUET et NÈGRE (10) qui confirment tous les observations de ROMER (118).

On obtient, par cette méthode d'inoculation, une tuberculose expérimentale avec des lésions péritonéales et viscérales caséuses, mais surtout caractérisées par une richesse extraordinaire en bacilles libres dans la rate dont certains frottis, à l'examen microscopique, ont l'aspect de colonies étalées. Toutefois les résultats expérimentaux de STAMATIN (130) et PIERCE (110) montrent que ce n'est pas la voie la plus favorable à l'infection, car les souris infectées meurent plus tard et irrégulièrement. L'infection provoquée par inoculation péritonéale évolue beaucoup plus lentement que l'infection provoquée par voie veineuse. D'autre part, les doses infectantes doivent être, en général, plus fortes pour réaliser une infection limitée; cependant, cette voie d'inoculation présente un grand intérêt, en particulier chez les souris grises où les veines sont difficilement décelables; au laboratoire, on utilise fréquemment cette voie chez ces animaux de couleur grise, car elle est plus pratique du point de vue réalisation technique, elle donne d'ailleurs des résultats très valables;

7° *La voie intrarachidienne et intracérébrale* : SELLARDS et PINKERTON (123) utilisèrent pour la première fois, lors d'essais d'inoculation de la lèpre, la voie cérébrospinale chez la souris. Ils réalisèrent ainsi la première infection tuberculeuse extensive du cerveau et des métastases pulmonaires. La paroi crânienne de la souris est suffisamment mince pour être perforée facilement par une aiguille fine montée sur une seringue permettant l'inoculation de 1/20 de cc. BEQUIGNON (5), étudiant la tuberculose expérimentale de la souris blanche par voie cérébrale, écrit : « Cette voie d'inoculation détermine régulièrement l'apparition de lésions parenchymateuses pulmonaires; la rate, le foie, sans présenter de lésions macroscopiques autres qu'une hypertrophie, contiennent cependant des bacilles décelables par la culture ».

Ces conclusions seront confirmées par de nombreux auteurs et PIERCE, DUBOS et SCHAEFER (108-110) classant par ordre d'effica-

cité ces méthodes d'inoculation déclarent que la voie intracérébrale est incontestablement plus intéressante que la voie intrapéritonéale, elle est même plus sûre que la voie sous-cutanée. Ils constatent également que, précisément dans le cas de l'inoculation intracérébrale, le nombre des bacilles dans la rate était plus important durant les deux premières semaines qu'après inoculation intraveineuse. Ces auteurs admettent que l'inoculation intracérébrale pourrait être une méthode de détection du bacille tuberculeux dans les crachats, puisque de très petites doses de bacilles seraient retrouvées par ce mode d'inoculation. Malheureusement, aucune expérience n'a été faite au laboratoire dans ce sens;

8° *La voie intraveineuse* : C'est la voie d'inoculation par excellence, lorsque l'on cherche à provoquer une tuberculose expérimentale de la souris. CALMETTE (18) écrit : « L'infection de la souris peut être réalisée très commodément par voie sanguine — (méthode de WEIDANZ-TROMMSDORF) — grâce à l'existence, chez ces petits rongeurs, de deux veines superficielles facilement accessibles qui sont visibles latéralement à la base de la queue. Il est très aisé d'injecter directement dans l'une ou l'autre de ces veines une fine émulsion bacillaire. Pour effectuer ces injections à la souris, il faut faire usage de très fines aiguilles analogues à celles qu'emploient les dentistes pour les injections anesthésiques. On peut introduire, dans la veine d'une souris, jusqu'à 2 cc de liquide, l'animal étant immobilisé par un aide, l'opérateur saisit de la main gauche la queue dont il appuie la base sur son index et pique parallèlement au vaisseau. En retirant lentement la pointe de l'aiguille, on évite la sortie de la moindre goutte de sang ». Les veines, souvent très visibles, le deviennent davantage encore en mouillant la queue de l'animal avec un tampon ou encore en plongeant quelques secondes la queue de la souris dans un bain d'eau tiède, ceci entraîne une vasodilatation de la veine, rendant ainsi le repérage plus précis. Il convient évidemment de s'assurer, avant l'injection, que la seringue est purgée d'air, sinon une embolie gazeuse pourrait provoquer la mort de l'animal. On pourra facilement s'assurer que l'on ponctionne la paroi du vaisseau si l'on ne sent aucune résistance et en voyant le liquide refouler le sang dans la veine. Divers systèmes de contention ont été proposés pour faciliter l'injection intraveineuse chez la souris. En fait, ils ne présentent qu'un intérêt restreint étant donné les avantages de la méthode de WEIDANZ-TROMMSDORF.

Tous les auteurs s'accordent à reconnaître la validité de ce mode d'infection tuberculeuse chez la souris. C'est incontestablement la voie d'inoculation la meilleure et la plus précise. Non seulement cette méthode est techniquement facile à utiliser, mais encore les résultats obtenus sont très intéressants, beaucoup plus que ceux que l'on obtient avec d'autres voies d'inoculation comme le montrent KATO et ses col. (72).

Puisque la tuberculose rencontrée chez la souris est essentiellement, comme nous le verrons, une maladie hématogène, il n'est pas étonnant que l'on ait tout avantage à utiliser ce mode d'inoculation si l'on veut obtenir une maladie évolutive chez la souris.

En conclusion, il paraît intéressant de retenir quatre voies d'inoculation sûres lorsque l'on cherche à réaliser une infection tuberculeuse chez la souris. Ce sont les voies d'inoculation par inhalation, intracérébrale, intrapéritonéale et surtout intraveineuse qui paraît être actuellement la plus valable et, de ce fait, la plus employée.

B) LES BACILLES INJECTES

Pour juger de la virulence du bacille de Koch chez la souris, après inoculation, il faut tenir compte, non seulement de la sensibilité de l'animal et de la voie d'inoculation, mais aussi des caractères propres des bacilles de l'inoculat. Les bacilles tuberculeux ne présentant pas tous, selon leur variété et la souche considérée, le même pouvoir pathogène vis-à-vis de la souris. Comme le soulignent MIZUNOE et ses col. (97) l'âge de la culture, les milieux, l'homogénéisation, les dilutions employées sont autant de facteurs qui peuvent modifier les effets de l'inoculation. Il convient donc de préciser ces différents facteurs dans le cadre d'une étude comparative de la virulence des bacilles tuberculeux :

1° *Nature du bacille injecté* : Les variétés de bacilles tuberculeux utilisées dans l'étude de la tuberculose expérimentale de la souris répondent aux deux types suivants : Bacille humain et Bacille bovin. Ces deux catégories de mycobactéries présentent souvent une virulence différente pour la souris ; le pouvoir pathogène du bacille bovin paraît, en effet, plus grand pour ce rongeur ; ce bacille bovin, inoculé à dose faible, provoque encore des lésions de tuberculose expérimentale alors qu'inoculé à la même dose, le bacille humain ne provoque pas de lésion. Cette virulence plus

grande du bacille bovin chez la souris fut retrouvée et confirmée par WEBER (146), TROMMSDORF (142), PETER (106), BINDER (9), BROWNING (17), BOQUET (10) et STAMATIN (130-131), mais contestée par LANGE (77), SCHWABACHER et WILSON (122), GUNN et NUNGESTER (59), LONG et VOGT (82) pour lesquels la virulence du bacille bovin serait semblable à celle du bacille humain. Nous n'avons pas actuellement de résultats expérimentaux permettant de confirmer ou d'infirmer cette notion.

L'étude comparative de la virulence peut être réalisée chez la souris, mais il est nécessaire de s'entourer de nombreuses précautions, en particulier utilisation de souris d'une race sélectionnée où tous les individus ont une même sensibilité, inoculation d'une souche de bacille au même stade physiologique provenant de cultures dans les mêmes conditions, enfin injection d'une dose soigneusement mesurée et précisée;

2° *Les substances adjuvantes* : Dans le but d'obtenir une diffusion plus importante du bacille injecté, soit en limitant la phagocytose, soit en réduisant la barrière immunitaire, de nombreuses substances, dites « adjuvantes », furent préconisées; elles permirent toutes d'augmenter la virulence du bacille tuberculeux vis-à-vis de la souris en sensibilisant cet animal à la maladie expérimentale. MARMORECK (89) étudia, dès 1906, l'action du chlorhydrate de quinine qui diminue la résistance de la souris à l'infection tuberculeuse. PIERCE, DUBOS et MIDDLEBROOK (108) proposent l'adjonction de 25 % de jaune d'œuf à la suspension inoculée, mais MAC KEE et ses col. (87) ne retrouvent pas les mêmes résultats, la fine suspension de jaune d'œuf pourrait être même nocive pour l'animal augmentant les risques d'embolie lors de l'injection et ces chercheurs proposent de garder les suspensions salines. MILZER et LEVINES (95) observent un accroissement de la virulence des bacilles tuberculeux chez la souris grise inoculée par voie intrapéritonéale avec la souche H-37 RV en suspension dans de la mucine gastrique de porc. Des lésions macroscopiques de la rate et du foie, ainsi que des poumons, apparaissent alors dans les 10 jours suivant l'inoculation. Ces expériences furent reprises et confirmées par GALE, DE VESTY et JACK (40) qui inoculent 0,8 ml de mucine en intrapéritonéale et, immédiatement après, en un autre endroit de l'abdomen, 0,2 ml de dilution de bacilles. Ils constatent une accélération de la formation des foyers tuberculeux chez la souris et présentent une étude comparative

macroscopique et microscopique des lésions du tissu splénique des animaux traités par la mucine et des témoins. DUBOS (28-29), GRAY et MATTINSON (51-53) proposent de réduire le régime alimentaire, ce qui accélérerait la formation de lésions chez la souris inoculée. De même que le jeûne de un à deux jours, le gavage avec une nourriture de blanc d'œufs et riche en vitamines augmente la sensibilité de la souris aux diverses infections et en particulier à la tuberculose, comme le montrèrent DUBOS et SCHAEGLER (31). En étudiant le mécanisme de cette réduction de la résistance de la souris, DUBOS (28) émet l'hypothèse d'une augmentation de la sensibilité de ce rongeur à la tuberculose par la création de perturbations métaboliques, entre autres la déplétion des réserves de glycogène et la réduction de l'activité glycolytique des cellules inflammatoires et l'élévation du taux de certains acides carboxyliques dans l'organisme. DUBOS (28-29) essaye alors de démontrer cette hypothèse par l'addition de citrate de soude et de glutarate à des régimes variés présentés à la souris tuberculisée; ceci diminue la résistance à l'infection tuberculeuse des animaux. De plus, si du dinitrophénol ou de la thyroxine étaient administrés per os en quantité suffisante, la sensibilité de la souris à l'action du bacille tuberculeux était très augmentée. Ceci confirma les expériences de SWEDBERG (136) sur l'action de cette hormone dans la tuberculose expérimentale.

Ces études ouvrirent la voie aux essais de nombreuses substances modifiant le métabolisme des animaux infectés; ainsi l'alloxane, les traitements aux vaccins antioquelucheux et aux lipopolysaccharides typhoïdiques administrés par DUBOS et SCHAEGLER (31) quelques heures avant l'inoculation intraveineuse de bacilles tuberculeux augmentent la sensibilité de la souris à l'infection. Mais ce sont surtout les perturbations métaboliques, provoquées par un traitement hormonal aux extraits thyroïdiens et surrénaux qui se montrent les meilleurs adjuvants, entraînant une diminution notable de la résistance des souris à l'infection tuberculeuse. La cortisone fut utilisée par BRENNER et MAUSEN (16) dans la tuberculose expérimentale du cobaye, mais ces chercheurs reconnaissent que la souris serait plus sensible à l'action adjuvante de la cortisone. BRANDENBURG (15), le premier, observa la formation accélérée de foyers tuberculeux chez la souris traitée par des injections de cortisone de 0,3 à 0,4 mg par gramme de poids corporel à partir du 6^e jusqu'au 12^e jour après l'inoculation de bacilles tuberculeux. Cet auteur étudie également les effets de

l'irradiation de souris inoculées par le bacille de Koch; l'irradiation des souris peut être une méthode intéressante dans le but d'accélérer la formation de foyers tuberculeux, mais les dispositifs et le matériel nécessaires à l'emploi d'un tel adjuvant ne pouvant être mis à la disposition de la plupart des laboratoires, on préfère utiliser la cortisone pour obtenir le même résultat.

C) LES EFFETS PATHOGENES DU BACILLE DE KOCH CHEZ LA SOURIS

La tuberculose expérimentale de la souris peut se juger de plusieurs façons, soit en étudiant la léthalité des animaux inoculés, soit en relevant les lésions anatomopathologiques provoquées par l'inoculation, soit enfin, en recherchant la présence du bacille dans divers viscères de l'animal inoculé. C'est ainsi que nous avons procédé au cours des expériences réalisées au laboratoire. Nous avons donc utilisé une méthode bactériologique de recherche du bacille dans les divers tissus de la souris pour apprécier la virulence d'une souche bovine de bacille tuberculeux, nous donnerons les résultats de cette expérimentation au cours de cette étude.

1° *La léthalité tuberculeuse chez la souris* : Pour essayer de mesurer la virulence du bacille de Koch chez la souris, on peut se baser sur une surveillance de l'animal en relevant exactement le moment de sa mort, ceci est facilement réalisé chez la souris, puisque ce rongeur meurt rapidement.

Les premiers auteurs TROMMSDORF (142), PETER (106) n'utilisant qu'un nombre restreint d'animaux (quatre à six souris en moyenne) notèrent donc leurs résultats de façon simple en nombre de semaines. Puis BINDER (9), BOQUET (10), LANGE (77-78), BROWNING (17), GUNN (59), SCHWABACHER (121-122), STAMATIN (130-131) précisent leurs résultats en utilisant comme unité le nombre de jours de survie. Cette méthode de mesure s'avéra bien vite inadaptable aux études, faisant appel à un nombre plus grand d'animaux inoculés. A la durée de survie en jours furent substituées d'autres unités. Tout d'abord, PIERCE et ses col. (108) utilisent le rapport, nombre d'animaux morts sur nombre total de souris inoculées après quatre semaines ou encore le pourcentage de mortalité chez les animaux tuberculeux, mais ces études ne permettent d'apprécier la léthalité que dans un laps de temps déterminé, sans tenir compte des animaux susceptibles de mourir ensuite.

On abandonna donc cette mesure de pourcentage de mortalité au profit du temps moyen de survie d'un lot donné de souris inoculées. Après les études de BLISS (12) qui essaya de traiter mathématiquement certains systèmes biologiques, MARTIN (90) utilisant la souris dans l'étude de l'activité de certaines substances antituberculeuses, compara l'accroissement des moyennes arithmétiques des temps de survie des animaux inoculés et traités ou non, il constata alors qu'une meilleure mesure de l'efficacité thérapeutique des substances était obtenue en utilisant le temps moyen de survie, c'est-à-dire le temps mis par 50 % des animaux de divers groupes pour mourir. YOUMANS et RALEIGHT (156) utilisèrent divers critères de mesures de l'activité thérapeutique de substances chimiques dans la tuberculose expérimentale de la souris dont le temps moyen de survie. DONOVICK (27) compara la validité du temps moyen de survie au T 50 obtenu par une étude logarithmique de la courbe de distribution du pourcentage des mortalités, ces deux critères de mesure se montrent étroitement liés et pratiquement semblables. YOUMANS et ses col. (157) émettent l'hypothèse qu'une recherche plus précise concernant ce temps moyen de survie permettrait d'éclairer le problème de la multiplication du bacille tuberculeux chez la souris. Dans un autre ouvrage, ces mêmes auteurs (158) pratiquent une étude statistique portant sur un grand nombre de souris, ils concluent à la validité de cette mesure du temps moyen de survie qui sera, par la suite, employée par de très nombreux chercheurs. Son évaluation permet de déterminer l'activité antituberculeuse de certaines substances thérapeutiques chez la souris infectée.

Ces critères de survie varient en fonction de divers facteurs, dose, bacille et hôtes, de plus l'apparition des adjuvants accélérant le processus évolutif de la maladie, modifie les résultats expérimentaux à tel point que le temps de survie ne suffit plus à rendre compte de la maladie; comme, d'autre part, tous les animaux ne succombent pas à l'infection tuberculeuse, l'autopsie et l'étude à l'œil nu des lésions pathologiques spécifiques sont prises par STAMATIN (130), BOQUET (10), PIERCE (108) et GRAY (53) comme critères de la maladie tuberculeuse, ces auteurs évaluant les résultats expérimentaux en termes de lésions macroscopiques.

2° *Les lésions macroscopiques* : On pratique l'autopsie des animaux inoculés de façon à rechercher les lésions de base de la tuberculose expérimentale de la souris, celles-ci peuvent d'ailleurs

s'associer entre elles, réalisant des atteintes plus complexes. Cette étude macroscopique de l'état des divers organes peut être pratiquée soit après la mort de l'animal ou encore après sacrifice, de semaine en semaine, d'un lot de souris de façon à suivre l'évolution de la maladie expérimentale. Ainsi, un certain nombre de lésions plus ou moins importantes sont décelées :

a) Les caséifications : Des foyers nodulaires nécrotiques plus ou moins volumineux, isolés ou confluents, formant alors une masse caséuse, peuvent être observés au niveau des poumons, englobant les bronches et les alvéoles. On retrouve ces caséifications au niveau des reins, du foie et de la rate, ainsi qu'en d'autres points de la cavité abdominale et plus particulièrement dans les ganglions mésentériques et trachéobronchiques, surtout si l'infection est provoquée par voie intrapéritonéale comme le signalent STAMATIN (130-131), PIERCE (108) et GRAY (53). On pourra rapprocher de ce type de lésion le nodule caséux évoluant vers l'abcédation et l'ulcère persistant retrouvé par GRIFFITH (54), WEBER (146), BOFINGER (147) et BOQUET (10) et obtenu par inoculation sous-cutanée, cette lésion est utilisée par BRANDENBURG (14) pour obtenir un diagnostic rapide et pratique de l'infection tuberculeuse puisque le sacrifice de la souris n'est alors pas nécessaire. En fait, de telles lésions caséuses ne sont pas couramment observées à l'autopsie des souris tuberculeuses et, d'autre part, elles présentent souvent un aspect différent des processus anatomopathologiques classiques;

b) Les nodules : Beaucoup plus fréquents sont les nodules, parfois larges et confluent, le plus souvent petits, de la taille d'une tête d'épingle, de consistance gélatineuse et de couleur blanc nacré ou grisâtre, parfois translucides et brillants; ils n'évoluent pas vers la nécrose ou la caséification, ces tubercules siègent le plus souvent au niveau des poumons, sur le foie, le myocarde et les reins, une adénopathie satellite peut coexister avec ses tubercules qui sont parfois très nombreux, serrés les uns contre les autres, envahissant parfois tout le poumon. Ils peuvent former une masse blanchâtre mamelonnée, facilement énucléable, décrite par STAMATIN (130), BOQUET et NÈGRE (10), PIERCE et ses col. (108) de même que GRAY (53) se basent sur leur nombre pour déterminer, au niveau du poumon, l'importance de l'infection tuberculeuse de la souris.

Les granulations peuvent être rapprochées de ces lésions, sou-

vent petites, discrètes, parfois même invisibles à l'œil nu ou formant un fin piqueté sur le poumon, elles apparaissent comme l'atteinte macroscopique minime de la tuberculose expérimentale de la souris;

c) Les infiltrations : Les lésions pulmonaires observées prennent fréquemment l'aspect de blocs pneumoniques d'hépatisation. Les divers auteurs décrivent ainsi des infiltrations à type de congestion ou de pneumonie à tendance extensive, ce sont des lésions d'aspect homogène, grisâtre, apparaissant sous la forme de plages, petites et nombreuses, parfois hémorragiques, envahissant progressivement les deux lobes pulmonaires au cours de l'évolution de processus pathologiques, ces blocs d'hépatisation ainsi constitués expliquent l'augmentation de poids du parenchyme pulmonaire dont CERIOTTI (20) a voulu se servir pour évaluer l'atteinte tuberculeuse de la souris et doser l'activité anti-tuberculeuse de certaines substances thérapeutiques;

d) Les lésions extrapulmonaires : Cette infiltration atteint parfois le foie qui augmente de volume, mais souvent de façon discrète. La rate, par contre, peut s'hypertrophier considérablement, elle peut atteindre plusieurs fois son volume normal et présenter parfois des plages hémorragiques. Cette splénomégalie fut remarquée par BOQUET (10), STAMATIN (130), PIERCE (108), GALE (40-41-43). Ces auteurs décrivent un test rate dans l'appréciation de l'atteinte tuberculeuse chez la souris, ils comparent le taux d'augmentation du volume du tissu splénique chez les souris tuberculeuses et traitées par la mucine à celui des témoins. Ainsi l'augmentation extraordinaire du volume de la rate apparaît comme un des tests les meilleurs de la mesure de l'infection tuberculeuse chez la souris.

3° *Les lésions histologiques* : La simple étude macroscopique, tout comme la mesure du temps de survie moyen, ne sont pas des critères suffisants dans l'évaluation du pouvoir pathogène du bacille tuberculeux chez la souris et de nombreux auteurs ont cherché à compléter et à vérifier leurs conclusions par une étude histologique et bactériologique des lésions observées. Ces examens microscopiques se révélèrent très intéressants car, bien souvent, les lésions visibles à l'œil nu étaient atypiques, le temps de survie moyen était modifié par l'interférence de divers facteurs secondaires et seul l'examen microscopique rendait compte d'une atteinte tuberculeuse de par la seule présence du bacille de Koch

dans les tissus de la souris, ce qui permet alors d'affirmer la maladie.

L'examen des tissus des divers organes sera pratiqué après coloration à l'hématoxyline éosine. Divers types de lésions histologiques peuvent être observés, depuis les lésions de caséification jusqu'aux lésions exsudatives :

a) Les foyers nécrosés : Les études microscopiques révèlent parfois l'existence de lésions s'étendant sur de nombreuses alvéoles pulmonaires avec un centre nécrosé et une infiltration massive de cellules inflammatoires, mais, fait curieux, signalé par PIERCE et ses col. (108), les septa alvéolaires paraissent encore visibles malgré la nécrose centrale, la distension des alvéoles périphériques indique la présence d'un œdème important; de tels nodules caséeux peuvent exister au niveau du péritoine, des reins, du foie et de la rate de la souris tuberculeuse; parfois le tissu splénique est le siège d'une dégénérescence amyloïde avec de nombreux mégacaryocytes témoignant d'une atteinte importante de cet organe expliquant la splénomégalie et rendant compte d'une tuberculose sévère;

b) Les follicules : On peut découvrir à l'examen histologique des poumons, la véritable lésion folliculaire tuberculeuse de nature épithélioïde avec sa couronne de lymphocytes et ses cellules géantes multinuclées. Mais en général les lésions ne sont pas aussi typiques, surtout au niveau de la rate et du foie. On observe souvent des tubercules de nature épithélioïde ou histiocytaires, parfois simplement des plages épithélioïdes, voire une prolifération réticulaire diffuse avec de nombreux polynucléaires ou encore une infiltration leucocytaire périvasculaire dans le foie;

c) Les lésions exsudatives : Plus fréquemment on se trouvera en présence d'une réaction congestive à l'inflammation tuberculeuse, en particulier au niveau des tissus à trame lâche, c'est-à-dire, les poumons et la rate. Des lésions d'alvéolites macrophagiques et leucocytaires à polynucléaires, groupés en amas, autour des vaisseaux furent décrites par de nombreux chercheurs: des infiltrations diffuses histiocytaires, ainsi que des œdèmes alvéolaires et spléniques sont souvent observés. Ces différentes lésions tuberculeuses de base coexistent habituellement au niveau des divers organes et il est difficile de préciser le stade évolutif de la maladie sur la présence de ces lésions très diverses et très étendues; d'autre part, ces modifications anatomopathologiques sont

souvent tardives et, lorsqu'elles sont précoces, elles sont alors peu typiques. C'est pourquoi la découverte d'altérations histologiques des tissus sert peu aux différents chercheurs dans l'étude de la tuberculose expérimentale. La tendance marquée chez la souris au développement de lésions non spécifiques et atypiques exige alors l'examen bactériologique pour affirmer la tuberculose.

4° *Les lésions bactériologiques* : Déjà STRAUSS (134) et ROMER (118), dès les premières tentatives d'inoculation de bacilles tuberculeux à la souris avaient signalé la richesse extraordinaire des divers organes de l'animal en bacilles de Koch, ces résultats expérimentaux furent constamment retrouvés par de très nombreux auteurs. BOQUET et NÈGRE (10), dès 1921, ayant constaté que « certains frottis de rates de souris ont, à l'examen microscopique, l'aspect de colonies étalées », concluent : « L'examen macroscopique doit toujours être complété par l'examen microscopique des frottis d'organes, principalement du foie, de la rate et des poumons ». Depuis, de nombreux chercheurs se basent sur une étude du nombre de bacilles retrouvés dans les divers viscères de la souris pour évaluer l'atteinte tuberculeuse de cet animal. PIERCE, DUBOS, MIDDLEBROOK (108-110) pratiquent l'examen direct des organes de souris après coloration au Ziehl Neelsen et observent au niveau des poumons « la présence d'une énorme quantité de bacilles, soit intra, soit extracellulaires, si la plupart des bacilles se trouvaient dans les lésions parenchymateuses, on en rencontre aussi dans les bronches. » Etudiant la survivance et la multiplication des bacilles tuberculeux chez la souris, ces mêmes auteurs (110) proposent d'améliorer cette méthode directe de numération bacillaire par l'étude de frottis d'organes obtenus de la manière suivante : les organes de souris tuées au chloroforme sont recueillis aseptiquement, ainsi que le sang obtenu par ponction cardiaque, puis les viscères sont placés dans un milieu contenant 2 % de sérum albumine de bœuf, ces protéines ayant pour but de protéger le bacille contre les effets toxiques des substances dérivant des broyats et de l'autolyse des tissus, les organes sont alors broyés avec un mortier et un pilon en présence d'alumine ou de sable stérile, on pourra utiliser à cet effet divers broyeurs, comme le broyeur à bille de JOUAN, celui de BORREL, de FISCHER ou de LATAPIE, mais actuellement, depuis les études de PIERCE et ses col. (110) le broyeur de Teflon semble plus employé. Le nombre de bacilles tuberculeux présents dans les émulsions d'organes fut

déterminé par étalement approprié sur milieu d'acide oléique, albumine, agar, maintenu à 37,5° durant 14 jours. On calcule alors le nombre de colonies retrouvées sur ce milieu par organe entier. Utilisant ce procédé, ces chercheurs montrent l'existence d'une relation entre le degré de virulence d'une souche de bacilles donnés et le nombre de bacilles vivants retrouvés dans les tissus de la souris inoculée. Ils étudient également le devenir du bacille tuberculeux chez la souris et proposent une classification des cultures de bacilles tuberculeux testés en : bacilles avirulents, incapables de se multiplier *in vivo* ; en bacilles atténués se multipliant, mais entraînant des lésions abortives et, enfin, en bacilles virulents se multipliant et provoquant des lésions tissulaires évolutives. En outre, le nombre des bacilles tuberculeux retrouvés dans la rate apparaît dans cette étude comme une expression directe de la virulence de la souche. NOUFFLARD et BERTEAUX (401) substituent à la méthode de culture, sur milieu de DUBOS AGAR, la technique de culture sur lame suivante : « Une goutte d'émulsion splénique est étalée à une extrémité d'une lame de verre étroite de façon à couvrir environ 2 cm de long... on laisse sécher quelques minutes dans une boîte de pétri stérile, puis on l'immerge dans l'acide sulfurique à 6 % pendant six minutes, puis dans l'eau stérile. On place la lame ensuite, le broyat vers le fond, dans des tubes à essai de 18 × 180 mm contenant 3 ml de milieu de DUBOS sans tween 80, les cultures sont mises à l'étuve. Au bout de six à dix jours, la lame est retirée et colorée par le Ziehl, les colonies sont reconnaissables au faible grossissement, au microscope... bien avant l'apparition de colonies visibles à l'œil nu. »

Si ces tests de culture de tissus apparaissent à FENNER (39), MAC KAUFEN (86), GRAY (51-52), MAC CUNE (82 et 83), KATO (71-72), YAMAMURA (152) et leurs col. comme les plus sûrs dans l'étude de la tuberculose expérimentale de la souris, ces tentatives de numération des bacilles viables dans les organes de souris infectées par voie intraveineuse sont discutées par JOHN SEVER et YOUNG (124) qui présentent un certain nombre de données relevant des sources d'erreurs dont les variations du contenu microbien dans les mêmes organes de souris différentes. L'accent est donc mis sur la nécessité de disposer de données suffisantes et d'une analyse statistique adéquate, quand cette technique de numération est appliquée ; toutefois, le test rate bactériologique n'en reste pas moins valable dans de très nombreux cas. GALE, DE VESTY et JACK (40) utilisant les cultures sur tissus sanguin, hépa-

lique, pulmonaire et splénique de souris inoculées en intrapéritonéale avec du bacille tuberculeux et de la mucine, observent les meilleurs résultats par l'examen microscopique de la rate, les cultures pulmonaires et hépatiques seraient moins souvent positives et, de ce fait, moins intéressantes.

D) NOTRE EXPERIMENTATION D'INOCULATION DE BACILLES BOVINS A LA SOURIS

La virulence étant prise dans le sens défini par BOQUET : « La puissance de végétation du bacille de Koch in vivo, la rapidité et l'abondance avec lesquelles il dissémine de proche en proche et à distance ». Nous avons donc étudié, comme BOQUET, RICH, DUBOS et STEENKEN, l'aptitude des bactéries à survivre et à se multiplier dans les tissus d'un hôte, ce que nous avons appelé « la lésion bactériologique ». Nous avons donc recherché, de même que les auteurs précédents, la persistance du bacille dans les trois organes suivants de la souris : le poumon, la rate et le rein. Ce mode d'étude du pouvoir pathogène des mycobactéries chez la souris nous a amené à réaliser un certain nombre de tableaux où sont figurés les résultats obtenus de la manière suivante :

Certains animaux atteints par la maladie expérimentale sont morts spontanément, d'autres furent sacrifiés à date fixe, d'autres encore à la fin de l'expérimentation. Le mode d'exitus de la souris inoculée est porté sous la forme de l'abréviation « M » signifiant morte et « S » sacrifiée, la durée de survie en jour est également notée.

De toute façon, quelle que fut la raison de la mort, une autopsie a été pratiquée. Le poumon, la rate, le rein ont été prélevés aseptiquement puis broyés respectivement dans un mortier, en présence de sérum physiologique. Le broyat ainsi obtenu est divisé en deux parties.

La première part est destinée à la recherche du bacille par examen direct : on pratique un étalement du poumon, de la rate et du rein ; on colore par le Ziehl-Neelsen, puis on recherche alors les bacilles présents ; nous avons pu ainsi inscrire dans les tableaux les résultats de cette observation microscopique.

Le reste du broyat réservé aux cultures fut divisé en deux parties : l'une fut traitée par l'acide sulfurique, l'autre par l'ammonium quaternaire, on a remarqué, en effet, que certaines myco-

bactéries sont détruites par l'acide sulfurique alors que d'autres le sont par l'ammonium quaternaire, mais la sensibilité de ces mycobactéries à l'action de ces deux agents chimiques n'est, en général, pas la même, d'où l'intérêt de l'emploi des deux traitements précédents.

L'ensemencement fut pratiqué sur deux milieux différents : le milieu de Jensen et le milieu de Coletsos.

Les cultures sont alors placées à l'étuve à 37°, sous papier noir, de façon à éviter l'action de la lumière. Suivant la couleur et l'aspect des colonies, on distingue ainsi la catégorie à laquelle les mycobactéries des cultures appartiennent dans la classification basée sur la chromogénèse.

Après 45 jours, on recherche les colonies bactériennes obtenues par ces cultures et les réponses positives sont alors notées. Les milieux ne présentant pas, à ce premier examen, de colonies visibles sont remis à l'étuve; après 105 jours, les cultures restées sans réponse sont soumises à un nouvel examen et les résultats négatifs correspondant à l'absence de bacilles sont alors seulement inscrits dans les tableaux.

Les résultats de la recherche des bacilles inoculés dans les trois viscères, poumon, rate, rein, soit par examen direct, soit par culture, sont notés sous la forme suivante, le signe + témoignant de la présence des bacilles; lorsque ceux-ci ne sont pas retrouvés dans les divers viscères explorés, le résultat négatif est inscrit sous la forme du chiffre 0.

Dans le but de rechercher et de connaître le viscère de la souris, le plus souvent contaminé lors de ces inoculations de mycobactéries virulentes et de virulence atténuée, nous avons réalisé un tableau récapitulatif des diverses expériences pratiquées. Ce tableau final est construit de la façon suivante : Nous avons noté le nombre de souris soumises aux examens directs et cultures dans des intervalles de temps donnés de 0 à 132 jours et de 133 à 365 jours, puis le nombre des résultats positifs et négatifs obtenus pour chaque viscère étudié dans les mêmes délais. Ensuite, ne tenant compte que des résultats positifs, c'est-à-dire des souris présentant des bacilles aux examens, nous avons calculé et établi le pourcentage de contamination du poumon, de la rate et du rein que nous avons appelé « pourcentage de positivité viscérale », nous avons ainsi une idée de l'organe où siège le plus souvent le bacille.

De cette façon fut réalisée une série d'expériences portant sur 11 souris inoculées avec une souche bovine « Bov 85 ». Les résultats suivants sont obtenus :

TABLEAU I

Expérience du 22 août 1962.

- Souche Bovine Bov 85.
- Souris ML.
- Voie d'inoculation intraveineuse.

Durée de survie	ORGANES					
	Poumon		Rate		Rein	
	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture
S 36 jours	+	+	+	+	0	0
S 69 jours	0	0	0	0	0	0
S 69 jours	+	+	0	0	0	0

Expérience du 2 février 1963.

- Souche Bovine Bov 85.
- Souris Swiss.
- Voie d'inoculation intraveineuse.

Durée de survie	ORGANES					
	Poumon		Rate		Rein	
	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture
M 18 jours	+	+	+	+	+	+
M 19 jours	+	+	+	+	0	0
M 43 jours	+	+	+	+	+	+
M 59 jours	+	+	+	0	+	0
M 111 jours	+	+	+	+	+	+
S 124 jours	+	+	+	+	+	+
M 142 jours	0	0	0	0	0	0
S 154 jours	0	0	0	0	0	0

RÉCAPITULATIF

Souches Bovines Bov 85 inoculées par voie intraveineuse.

— Deux expériences.

Survie	EXAMEN DIRECT						CULTURE					
	Poumon		Rate		Rein		Poumon		Rate		Rein	
	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+
0 à 132 jours :												
9 souris	1	8	2	7	4	5	1	8	3	6	5	4
133 à 365 jours :												
2 souris	2	0	2	0	2	0	2	0	2	0	2	0

Pourcentage de positivité de l'inoculation et de positivité viscérale

	Souris +	Souris —	Poumon	Rate	Rein
0 à 132 jours : 9 souris.	8	1	100 %	87,4 %	62,5 %
132 à 365 jours : 2 souris.	0	2	—	—	—

Si nous considérons comme des erreurs d'inoculation les souris sacrifiées au bout de 69 jours et après 154 jours, ainsi que la souris morte au 142^e jour dont les viscères ne contenaient pas de bacilles tant à l'examen direct qu'à la culture et si nous éliminons, de ce fait, ces souris de nos conclusions, nous observons que la souche bovine inoculée par voie intraveineuse présente une grande virulence pour la souris. celle-ci se traduit par une mortalité élevée dans un délai relativement court, ainsi que par la présence des bacilles dans les viscères de tous les animaux inoculés. Le bacille bovin « Bov 85 » semble donc, non seulement survivre, mais se multiplier dans l'organisme de la souris et dans tous les organes examinés.

Si l'on recherche le viscère le plus atteint, on constate que le poumon est le grand réservoir de bacilles de l'organisme de la souris. Le pourcentage de positivité de ce viscère est de 100 %, c'est-à-dire que toutes les fois où le bacille bovin était présent dans l'organisme de la souris, il était retrouvé également dans le tissu pulmonaire. Il suffit de regarder le tableau résumant l'expérience du 2 février 1963 pour constater que le bacille est retrouvé non seulement à l'examen direct, mais encore dans les cultures du tissu pulmonaire et le poumon apparaît donc comme un réservoir de bacilles important.

La rate est atteinte dans 87 % des cas, c'est-à-dire que le tissu splénique constitue un grand réservoir de bacilles mais moins que le poumon.

L'examen direct et la culture du tissu rénal ne révèlent l'existence du bacille que dans 62,5 % des cas, les résultats des recherches du bacille dans cet organe sont d'ailleurs entièrement négatifs dans l'expérience du 22 août 1962.

Lorsque l'on recherche la présence du bacille tuberculeux bovin dans les viscères de la souris, il semble donc que l'examen essentiel et le plus sûr est représenté par l'observation directe et la culture du tissu pulmonaire. La culture de rate des souris inoculées présente également un intérêt certain: il est plus aléatoire d'essayer de se faire une idée de la virulence bactériologique du bacille de Koch sur le seul examen des reins.

E) LE PROBLEME DE L'ALLERGIE TUBERCULINIQUE DE LA SOURIS

De nombreux chercheurs ont essayé d'étudier la tuberculose expérimentale de la souris par la mise en évidence de l'allergie tuberculinique chez cet animal. Les résultats obtenus sont très contradictoires, déjà BOQUET, NÈGRE et VALTIS (41), en 1927, et CERTL et THOMAS (48), en 1940, prouvèrent que des souris infectées par le bacille humain ou bovin restaient insensibles au test cutané, même avec des protéines purifiées.

HART, LONG et REES (60) retrouvèrent ces résultats mais notent qu'une réaction peut suivre l'injection intraveineuse de tuberculine à dose forte et KIRCHHEIMER et MALKIEL (73) rapportent par ailleurs que les souris sensibilisées peuvent être choquées par une intraveineuse de tuberculine dès le 10^e jour après l'inoculation de bacilles H-37 RV et BCG. Enfin, GRAY et JENNINGS (52) affirment que les souris noires de la souche C-57 deviennent toujours allergiques lorsqu'elles sont exposées aux bacilles tuberculeux, cet état étant mis en évidence par le gonflement de la patte à la suite de l'injection locale de tuberculine dans le coussinet plantaire ou par la mort quand l'injection est intrapéritonéale. Ces résultats expérimentaux ne furent point retrouvés, bien qu'utilisant la même technique, par GASTINEL et ses col. (44). Toutefois, ces auteurs écrivent : « Il convient de signaler que dans quelques cas la mort est survenue 48 heures après l'intradermo-réaction

tuberculinique. On trouve à l'autopsie des lésions viscérales diffuses... Lorsque l'on explore la sensibilisation par voie sous-cutanée, il apparaît nettement que les souris ont acquis un état d'allergie. » Enfin, selon FAVOUR (35) et BRANDENBURG (14) l'allergie tuberculinique ne peut être considérée comme un test valable de l'infection tuberculeuse chez la souris, car ces animaux ne manifestent aucune allergie cutanée à l'égard de la tuberculine.

F) LA SOURIS, ANIMAL DIAGNOSTIC DE LA TUBERCULOSE

La possibilité de remplacer le cobaye par la souris, comme animal de diagnostic fut annoncée par GRAY, CLARKE et MATTINSON (51-53), puis par SZABO-SCUZS (135). L'utilisation de la souris offre l'avantage de l'économie et la possibilité de se servir des souches sélectionnées pour leur grande sensibilité à la tuberculose. L'intérêt de cet animal dans la recherche de produits pathogènes tuberculeux, peut être augmenté par la restriction alimentaire contrôlée et surtout par l'addition de substances adjuvantes : mucine et cortisone. Si l'on observe certaines conditions, la souris sera sensible à l'infection tuberculeuse à 90 % contre 87 % au cobaye. L'avantage essentiel de la souris sur le cobaye est constitué par la rapidité de développement de lésions décelables et la facilité de la confirmation microscopique en deux ou trois semaines. Un inconvénient certain réside dans la tendance de la souris à développer des lésions pulmonaires non spécifiques comme les infections à *pasteurella*, mais on pourra lutter contre ces épidémies par une bonne stérilisation des locaux et la chimiothérapie.

GRAY et ses col. (51-53) sont donc d'avis que la souris peut être un animal utile pour les tests rapides relatifs à la virulence et également comme procédé habituel de diagnostic dans l'étude de produits pathologiques tuberculeux comme : l'urine et les liquides de lavage gastrique.

NOUFFLARD et BERTEAUX (102) ont montré les avantages de la souris comme animal dans le diagnostic de la tuberculose : ils ont confirmé les données de CLARKE et MATTINSON (51-53) sur la possibilité d'injecter à cet animal des urines et des liquides d'épanchement sans traitement préalable, le liquide céphalorachidien et le pus après traitement, centrifugation et dilution dans la frac-

tion V d'albumine bovine, le liquide gastrique après traitement par la soude et le teepol, enfin les pièces d'exérèse après broyage et émulsion dans le sérum albumine. Ces chercheurs proposent également l'accélération du processus évolutif de la tuberculose de la souris par la cortisone, mais sans grand résultat. Utilisant le principe de la culture de rate de souris sur lame, ces auteurs montrent la possibilité de détecter le bacille tuberculeux pathogène dans des produits paucibacillaires et pratiquent des tests de sensibilité aux différents antibiotiques : streptomycine, isoniazide et PAS., aux dilutions appropriées. Ils réalisent ainsi un antibiogramme dont les résultats peuvent être donnés en 26,4 jours, soit beaucoup plus rapidement qu'avec les méthodes usuelles, ce test de sensibilité étant aussi fidèle que ceux obtenus par la méthode des dilutions en milieu de DUBOS.

Les conclusions de MILZER et LEVINES (95-96) établissaient que le test souris dans le diagnostic de la tuberculose était inférieur aux méthodes classiques de culture et d'inoculation au cobaye. GALE et ses col. (40-41), ayant remarqué que dans les études de MILZER, au 20^e jour, les résultats du test souris paraissaient plus souvent positifs que les autres méthodes diagnostiques à cette date, reprennent ces recherches et, utilisant les données de l'augmentation du pouvoir pathogène du *mycobacterium tuberculosis* grâce à l'addition de la mucine de porc comme adjuvant, ils injectent en intrapéritonéale à des souris, des crachats de tuberculeux après traitement de ce produit pathologique par l'hydroxyde de soude et l'alun, puis par neutralisation et homogénéisation. Une surveillance des souris est entreprise pour calculer le temps de survie des animaux ainsi inoculés, des autopsies sont pratiquées tous les cinq jours pour rechercher les lésions macroscopiques, en particulier la splénomégalie. On réalise des cultures et des colorations à la recherche du bacille de Koch dans la rate à des fins de numération. La présence du bacille tuberculeux dans les crachats des malades put être affirmée en cinq jours contre 46 par la méthode des cultures. Sur 46 prélèvements, 90 % des tests souris étaient positifs en 20 jours contre 76 % des cultures en 56 jours.

Un résultat intéressant est donc obtenu par cette méthode, puisque le délai de mise en évidence du bacille tuberculeux dans un produit pathologique est considérablement diminué; la sensibilité de la méthode est également bien supérieure à toutes celles classiquement employées.

Ces conclusions furent confirmées par BRANDENBURG (14) qui, utilisant la cortisone comme substance adjuvante, propose l'étude microscopique du point d'inoculation sous-cutanée de produit pathogène chez la souris, ce qui simplifie les dissections; cet auteur conclut alors : « L'essai sur la souris donne des diagnostics positifs trois semaines après l'infection au moyen d'une faible quantité de germes virulents, capables de se reproduire et s'avère plus simple et meilleur marché que l'essai sur le cobaye. Les prélèvements n'auront pas besoin pour l'essai sur la souris d'être prétraités d'une façon antibactérienne aussi intense que lors d'essai de culture, étant donné que la plupart des germes présents dans les prélèvements ne créent aucune perturbation dans l'essai sur la souris. Contre le pneumocoque, on pourra protéger la souris par la pénicilline. »

A la suite des essais fructueux des chercheurs précédents, nous avons tenté de réaliser une étude de la validité de l'utilisation de la souris, comme animal diagnostic de la nature tuberculeuse de produits pathologiques humains. Nous avons donc pratiqué l'inoculation à la souris de liquide céphalorachidien et pleural, ainsi que de prélèvements ganglionnaires provenant de malades. Dans le tableau suivant, nous pouvons comparer les résultats obtenus par le test souris avec ceux des méthodes classiques d'inoculation au cobaye et de cultures en milieu de Jensen et Coletsos.

Que l'on veuille bien ne pas nous tenir rigueur du caractère partiel des résultats apportés. Des expériences plus complètes d'inoculation à la souris dans un but diagnostique sont en cours actuellement. Nous pouvons toutefois observer sur ce tableau un certain nombre de faits intéressants.

Les souris inoculées avec les produits pathologiques contenant des bacilles, soit à l'examen direct, soit à la culture, présentaient également des bacilles dans leurs organes et ceci dans un délai relativement court, ce qui confirme les résultats obtenus par GALE et BRANDENBURG.

Les deux résultats positifs obtenus par culture et inoculation au cobaye mais non retrouvés par le test souris, sont probablement dus à des erreurs de la technique d'inoculation intraveineuse, le liquide céphalorachidien en cause ayant été inoculé sous la peau de la queue de la souris et non dans la veine; d'autre part, les inoculats réservés à la souris étaient constitués généralement par les résidus de la centrifugation dont le culot avait servi aux

TABLEAU II

	Nature des produits biologiques	Culture sur milieu de Jensen	Culture sur milieu de Coletos	Inoculation aux cobayes	Inoculation à la souris
Nic	L.C.R. (a).....	0	0	Sans valeur	0
Lit	L.C.R.	0	0	0	Sans valeur (contaminé)
Mas	L.P.	Non pratiqué	Non pratiqué	Non pratiqué	Sans valeur
Bel	L.P.	0	0	0	0
All	L.C.R.	0	0	0	0
Mar	L.C.R.	0	0	0	0
Lec	L.C.R.	0	0	0	0
Err	Ganglions	0	0	0	0
Zag	Urines	+	+	+	+
Rom	L.C.R.	+	+	Non pratiqué	0
Joy	L.C.R.	+	+	Sans valeur	0
Che	L.C.R.	Non pratiqué	Non pratiqué	+	0
Ara	L.C.R.	0	0	Sans valeur	0
Bai	L.C.R.	0	0	Non pratiqué	0
Jai	L.C.R.	+	+	Non pratiqué	0
Ach	L.C.R.	Non pratiqué	Non pratiqué	Non pratiqué	0
Sen	L.C.R.	0	0	Non pratiqué	0
Mar	L.C.R.	0	0	0	0
Cer	L.C.R.	0	0	0	0
Rob	L.C.R.	0	0	0	0
Eng	L.C.R.	0	0	0	0
Jag	L.C.R.	0	0	0	0
Fos	L.C.R.	0	0	Non pratiqué	0
Reb	L.C.R.	0	0	Non pratiqué	0
Lat	L.P.	0	0	Non pratiqué	0
Jan	L.C.R.	0	0	0	0
Pro	L.C.R.	0	0	0	0
Sin	L.C.R.	+	+	Sans valeur	0
Gar	Ganglions	+	+	+	+

(a) Liquide céphalorachidien.

cultures et à l'inoculation du cobaye, car il s'agissait d'obtenir un diagnostic bactériologique nécessaire à la clinique et à la mise en œuvre d'un traitement. Les conditions dans lesquelles ces inoculations ont été effectuées furent donc des plus défavorables. néanmoins, nous avons voulu réunir un certain nombre de résultats que des études ultérieures permettront de préciser.

Toutefois, les tests souris proposés présentent tous de grands avantages : simplicité, rapidité et sensibilité, leur usage dans un but diagnostic de la nature tuberculeuse d'un prélèvement chez un malade pourrait être d'un grand secours dans le traitement et le contrôle de la tuberculose.

CHAPITRE III

LA TUBERCULOSE EXPÉRIMENTALE DE LA SOURIS A BACILLES RÉSISTANTS A L'ISONIAZIDE

Depuis la mise en évidence de la grande sensibilité des tests souris dans le diagnostic de la tuberculose, de nombreux chercheurs ont pensé utiliser cet animal dans les études concernant les bacilles tuberculeux peu pathogènes ou à virulence atténuée, en particulier les mycobactéries isoniazidorésistantes - BCG et atypiques.

Depuis 1953, on a constaté que les bacilles tuberculeux résistants à l'INH sont souvent incapables de produire une maladie expérimentale évolutive chez le cobaye; ceci mit en cause la valeur du diagnostic de la tuberculose par inoculation à cet animal, comme par ailleurs de tels bacilles cultivent difficilement sur les milieux artificiels usuels, de nombreux auteurs ont pensé à la souris pour mettre en évidence ces mycobactéries isoniazidorésistantes. Mais les conclusions des études des différents chercheurs ne furent pas toutes concordantes.

1° Les bacilles isoniazidorésistants seraient avirulents pour la souris.

GRUMBERG (58), en 1952, constate que les bacilles isoniazidorésistants ne provoquent pas de tuberculose évolutive chez la souris. BARNETT, BUSHBY et MITCHISON (3) ont trouvé qu'un mutant isoniazidorésistant de la souche H 37 RV, ainsi qu'une souche voisine obtenue d'un malade traité par l'INH, présentaient un faible degré de virulence quand elles étaient injectées en intra-veineuse chez la souris; ces mycobactéries paraissaient toutefois

plus pathogènes pour cet animal que pour le cobaye. Ces mêmes auteurs, dans un autre ouvrage, étudiant l'action de l'INH chez la souris inoculée avec des souches faiblement résistantes observent une virulence totalement conservée de ces bacilles pour la souris et une augmentation du temps de survie par traitement à l'isoniazide.

HOBBS et ses col. (66) constatent une survie plus prolongée pour la souris inoculée avec la souche Vallée, résistante à 50 mcg d'isoniazide par cm³, qu'avec la souche sensible et concluent : « De même que pour le cobaye, les mutants isoniazidorésistants de la souche Vallée ne possèdent aucune virulence pour la souris inoculée par voie sous-cutanée ou intraveineuse ».

A cette idée de l'avirulence des bacilles isoniazidorésistants s'opposent de nombreux auteurs qui ne retrouvent pas les résultats précédents.

2° Les bacilles isoniazidorésistants seraient virulents pour la souris.

KARLSON et IKEMI (70), lors de deux études successives, n'observent pas de différences marquées entre le pouvoir pathogène des bacilles tuberculeux sensibles et résistants à l'isoniazide : « Tous les animaux mouraient en une quarantaine de jours, l'aspect des lésions macroscopiques et microscopiques étaient semblables, les bacilles isolés des organes de la souris présentaient le même degré de sensibilité et de résistance à l'INH in vitro que ceux des cultures d'origine ».

GOULDING et ses col. (50) constatent qu'après inoculation intracornéenne de souches de bacilles résistants, les animaux développent des lésions, mais il faut généralement une période de 14 jours en moyenne pour voir ces altérations s'étendre rapidement.

BLOCH, WIDELOCK et PEIZER (13) étudiant le pouvoir pathogène des souches de bacilles de Koch isolés de crachats de vingt malades traités par l'isoniazide chez la souris infectée par voie veineuse, concluent qu'il n'existe aucune relation entre la sensibilité à l'isoniazide et le pouvoir pathogène chez la souris, les isoniazidorésistants conservant une certaine virulence.

MORSE (90) ne constate qu'une « très légère différence dans les lésions observées chez les souris inoculées par voie intraveineuse avec la souche H-37 RV sensible et son mutant résistant ».

COHN et ses col. (22-23) signalent peu de différence entre les variantes sensibles et résistantes à l'isoniazide des souches H-37 RV, Vallée et Pearson, même nombre de lésions et aspect identique, macroscopique et histo-bactériologique des poumons, des souris CF1 inoculées par voie aérogène avec le même nombre de bacilles IHN sensibles et résistants.

3° *Les bacilles isoniazidorésistants sont virulents mais de virulence atténuée pour la souris.*

En France, RIST et GRUMBACH (117) présentant des résultats d'inoculation intraveineuse de mycobactéries isoniazidorésistantes à la souris soulignent le fait que l'atténuation de la virulence pour cet animal peut être mise en évidence; sur 16 souches provenant de malades dont la résistance à l'isoniazide variait de 0.2 à 50 mcg d'INH par ml. 3 souches avaient une virulence normale pour la souris, les 13 autres avaient une virulence considérablement atténuée. Mais ces auteurs, dans un autre ouvrage, écrivent : « Toutes nos souches isoniazidorésistantes avirulentes pour le cobaye tuent la souris ».

NOUFFLARD (99-100) observe des résultats comparables « sur 4 souches isolées chez des malades traités par l'INH et trouvées très résistantes à ce médicament, trois ont donné aux souris des lésions généralisées mais beaucoup moins rapidement évolutives que celles provoquées par des souches sensibles. Il en a été de même avec des souches rendues résistantes à l'isoniazide in vitro » et cet auteur conclut : « La diminution de la virulence pour la souris n'est que relative ».

GERNEZ-RIEUX et ses col. (45-46) confirment une atténuation de la virulence pour la souris des bacilles IHN résistants mais il y a maintien d'un certain pouvoir pathogène puisque « tous les animaux sont morts de tuberculose après les délais toujours inférieurs à 40 jours... les souches résistantes permettent néanmoins un délai de survie plus important que celui obtenu à l'aide de souches sensibles à l'isoniazide... ces différences s'observent également pour les index de tuberculisation ».

4° *Recherche des facteurs de virulence pour la souris.*

Pour expliquer ces résultats apparemment contradictoires, de nombreux chercheurs ont étudié les divers facteurs modifiant les réactions de la souris au bacille isoniazidorésistant :

a) Facteurs voies d'inoculation : pour BERNARD, KREIS et LE

JOUBIQUX (6) la discordance relevée entre le comportement du cobaye et celui de la souris à l'égard des germes résistants pourrait s'expliquer par la différence des voies d'inoculation, sous-cutanée chez le cobaye, intraveineuse chez la souris. Ces chercheurs trouveraient une virulence équivalente des isoniazidorésistants chez la souris et le cobaye en utilisant la voie intraveineuse chez ce dernier. Toutefois, de nombreux auteurs pratiquant l'inoculation par voie veineuse n'en trouvent pas moins des résultats différents chez le cobaye comme chez la souris. La diminution apparente du pouvoir pathogène des isoniazidorésistants est indépendante de la voie d'inoculation;

b) Facteurs souches de souris : les discordances peuvent également s'expliquer par des sensibilités différentes des races des souris inoculées, mais, en général, les expérimentateurs n'utilisent que deux ou trois souches différentes, mais toutes sélectionnées pour leur sensibilité particulière à la tuberculose;

c) Facteurs souches de bacille : de même certains chercheurs ont montré une virulence différente des bacilles isoniazidorésistants suivant la catégorie des souches de mycobactéries, expliquant ainsi l'obtention des résultats opposés chez la souris; MIDDLEBROOK va même plus loin dans cette voie en montrant que l'atténuation de la virulence des isoniazidorésistants étaient en rapport avec l'absence d'activité catalasique, les isoniazidorésistants dépourvus de catalases étant moins pathogènes, mais ceci de façon discrète chez la souris;

d) Facteurs dose d'inoculats : dès le début des recherches sur le pouvoir pathogène des bacilles résistants à l'isoniazide, on avait remarqué que les doses importantes ne permettaient pas de mettre en évidence cette diminution de virulence alors que les doses plus faibles étaient plus aptes à révéler cet aspect des INH résistants, c'est pourquoi RIST et GRUMBACH (117) proposèrent d'utiliser des doses données moyennes de 0,5 mg;

e) Facteur résistance : étudiant des souches de résistances homogènes, certains chercheurs, dont BARNETT (3), ont pensé qu'il existait un rapport entre la virulence et le degré de résistance à l'isoniazide des bacilles inoculés à la souris. En fait, cette hypothèse est combattue par BLOCH (13), RIST et GRUMBACH (117), pour ces auteurs, le degré d'atténuation est sans rapport avec le degré de résistance et BERNARD (6) écrit : « La résistance n'est pas

directement en cause dans le fait qu'une souche se montre ou non peu virulente » ;

f) Facteur mélange de bacilles: les inoculations intraveineuses à la souris de bacilles isoniazidorésistants confirment que ces souches sont souvent moins virulentes que les autres, mais cette diminution du pouvoir pathogène n'est que relative; c'est pourquoi de nombreux chercheurs, dont MEISSNER, STEENKEN, GERNEZ-RIEUX (45) ont pensé que la persistance de ce pouvoir pathogène des souches dites résistantes était due à la présence de quelques bacilles sensibles, les inoculats n'étant que des mélanges de souches résistantes et sensibles. Pour vérifier cette hypothèse, de nombreuses études des populations bactériennes furent entreprises, WIDELock (148) pratique une étude expérimentale avec des mélanges de souches résistantes et sensibles et montre que certains bacilles résistants interviennent dans la création de lésions tuberculeuses chez la souris, alors qu'ils seraient absents chez le cobaye, même quand ils sont inoculés en grande quantité. Ce qui montre bien que les bacilles résistants à l'INH semblent conserver une virulence certaine pour la souris. Ces conclusions seront confirmées par NOUFFLARD et BERTEAUX (102) qui, appliquant leur méthode de culture sur lame et recherchant à vérifier l'hypothèse d'une élimination plus rapide des bacilles résistants au profit des sensibles dans la tuberculose de la souris, retrouvent toujours la proportion de bacilles résistants inoculés. Ceci permet de comprendre dans une certaine mesure les effets aggravants paradoxaux du traitement à l'INH de la tuberculose expérimentale de la souris observés par BARNETT (3), puis par RIST et GRUMBACH (117). Etudiant le processus évolutif de la maladie tuberculeuse par les isoniazidorésistants, CANETTI, GRUMBACH et GROSSET (19) observent avec de larges doses une chute rapide et précoce des populations sensibles et des fractions de populations faiblement résistantes, l'augmentation de la fraction fortement résistante se produisant plus tôt, celle-ci ne fut pas d'une importance plus grande que chez les souris traitées par une petite dose d'INH, ceci tiendrait à montrer que le bacille de Koch résistant serait pathogène pour la souris, mais sa virulence serait bien diminuée. GRUMBACH (55) écrit : « Les souches isoniazidorésistantes sont toutes virulentes pour la souris qu'elles tuent en des délais plus ou moins longs, elles provoquent toujours des lésions pulmonaires importantes, parfois diffuses et envahissantes, il n'apparaît pas de lésions rénales ». Les différences retrouvées dans les résul-

tats des inoculations de bacilles isoniazidorésistants à la souris, semblent tenir à la plus ou moins grande teneur des inoculats en bacilles sensibles; les populations bactériennes isolées de produits pathologiques sont souvent constituées de mélange de bacilles sensibles et résistants.

5° *Les résultats de notre expérimentation.*

Nous avons étudié la virulence des bacilles résistants à l'isoniazide chez la souris, de la même façon que lors des expériences précédentes avec une souche de bacille bovin, c'est-à-dire en tenant compte essentiellement de la virulence bactériologique, donc du pouvoir que possède le bacille de persister au niveau des viscères : poumon, rate et rein de l'animal d'expérience.

a) *Résultats de l'inoculation intraveineuse de bacilles humains résistants à l'isoniazide.*

Les recherches par l'inoculation intraveineuse de 25 souris avec les souches : Dec., Mek., Jac., MC. furent effectuées. Toutes les souches virulentes étaient extraites de produits pathologiques humains et résistantes à l'isoniazide. La souche Mek. était également résistante au PAS et seule la souche Jac. présentait une activité catalasique négative. Les résultats des inoculations sont groupés dans les tableaux suivants :

TABLEAU III

Expérience du 7 janvier 1963.

- Souche Dec.
- Souris PS.
- Voie d'inoculation intraveineuse.

Durée de survie	ORGANES					
	Poumon		Rate		Rein	
	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture
M 7 jours	0	0	0	0	0	0
M 50 jours	+	+	+	+	+	+
S 72 jours	+	+	0	+	0	0
M 112 jours	+	+	+	+	0	+
M 101 jours	+	+	0	0	+	+
M 142 jours	+	+	0	+	0	+
S 149 jours	0	+	0	+	0	0

Expérience du 14 janvier 1963.

- Souche Mek.
- Souris PS.
- voie d'inoculation intraveineuse.

Durée de survie	ORGANES					
	Poumon		Rate		Rein	
	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture
M 27 jours	0	+	+	+	0	0
M 31 jours	+	+	+	+	0	0
M 32 jours	0	+	+	+	0	+
S 147 jours	+	+	0	+	0	0

Expérience du 1^{er} mars 1963.

- Souche MC.
- Souris Swiss.
- Voie d'inoculation intraveineuse.

Durée de survie	ORGANES					
	Poumon		Rate		Rein	
	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture
M 14 jours	0	+	0	+	0	+
M 49 jours	0	+	0	+	0	+
M 50 jours	+	+	0	+	+	+
M 58 jours	+	+	+	+	+	+
M 65 jours	+	0	+	0	+	+
M 67 jours	+	+	+	+	+	+
M 69 jours	+	+	+	+	+	+

Expérience du 27 avril 1963.

- Souche jac.
- Souris ML.
- Voie d'inoculation intraveineuse.

Durée de survie	ORGANES					
	Poumon		Rate		Rein	
	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture
M 31 jours	+	+	+	+	0	+
M 33 jours	+	+	+	+	0	+
M 35 jours	+	+	+	+	+	+
M 45 jours	+	+	+	0	+	0
M 52 jours	+	+	+	+	+	+
M 55 jours	+	+	+	+	0	+

RÉCAPITULATIF

Souches de bacilles de Koch isoniazidorésistants.

- 4 expériences.
- 4 souches (Dec. - Mek. - Jac. - MC).
- Inoculation intraveineuse à la souris blanche.

Survie	EXAMEN DIRECT						CULTURE					
	Poumon		Rate		Rein		Poumon		Rate		Rein	
	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+
0 à 132 jours :												
22 souris...	5	17	6	16	11	11	2	20	4	18	6	16
133 à 365 jrs :												
3 souris....	1	2	3	0	3	0	3	0	0	3	2	1

Pourcentage de positivité de l'inoculation et de positivité viscérale

	Souris +	Souris —	Poumon	Rate	Rein
0 à 132 j. : 22 souris.	21	1	100 %	95,2 %	80,9 %
132 à 365 j. : 3 souris.	3	0	100 %	100 %	33,3 %

D'après ces études, on constate une persistance certaine de la virulence des bacilles isoniazidorésistants inoculés; si le délai de survie des souris paraît plus grand avec les souches résistantes qu'avec la souche bovine précédemment étudiée, la mortalité est néanmoins élevée. La maladie expérimentale provoquée chez la souris par cette inoculation intraveineuse entraîna la mort de la presque totalité des animaux, sauf trois qui furent sacrifiés, mais présentaient cependant des bacilles acido-alcoolorésistants dans leurs viscères. En effet, on retrouve les bacilles chez toutes les souris sauf une, morte 7 jours après l'inoculation du 7 janvier 1963 qui paraît être un raté de l'inoculation, puisque la recherche du bacille chez cet animal resta négative.

De même qu'avec la souche bovine étudiée précédemment, nous constatons que le réservoir principal de bacilles est constitué par le poumon dont toutes les cultures sont positives, sauf deux; l'examen direct de cet organe paraît moins sûr, toutefois le bacille est retrouvé dans le poumon, dans 100 % des cas.

La rate est également très riche en bacilles, en effet, le pourcentage de positivité de ce viscère atteint 95 % au début de l'expérimentation, puis 100 % après 132 jours, les résultats des cultures

de rate et de poumon, des expériences avec la souche Mec et Mc. sont exactement superposables, comme d'ailleurs les résultats des examens directs avec la souche Jac.

Le rein, riche en bacilles au début des expérimentations, les contient plus rarement ensuite; le tissu rénal se comporte comme l'émonctoire des bacilles; en effet, tout se passe comme si les mycobactéries isoniazidorésistantes étaient progressivement éliminées de ce viscère, le pourcentage de positivité viscérale de cet organe, élevé au début, il atteint 80,9 %, diminue ensuite rapidement, il n'est plus que de 33,3 % après 132 jours.

Les bacilles isoniazidorésistants considérés présentent donc une virulence certaine pour la souris. Les résultats des expérimentations précédentes sont concordants avec ceux de Mme GRUMBACH qui, procédant par une méthode d'étude anatomo-pathologique, avait signalé l'importance des lésions pulmonaires et l'atteinte toujours discrète et rare du tissu rénal.

b) Résultats de l'inoculation intrapéritonéale de bacilles humains résistants à l'isoniazide.

Pour préciser cette étude de la virulence des bacilles isoniazidorésistants chez la souris, nous avons pratiqué un certain nombre d'inoculations intrapéritonéales à la souris grise, les veines de la queue de cet animal étant peu visibles, l'inoculation intraveineuse de la souris grise est donc délicate, nous préférons utiliser, dans ce cas, la voie intrapéritonéale qui est apparue à de nombreux auteurs comme une des voies les plus sûres. Ainsi, deux souches de mycobactéries tuberculeuses résistantes à l'isoniazide furent inoculées à la souris grise, ce sont les souches Dec. et Jac.

Les résultats obtenus par l'inoculation intrapéritonéale confirment les conclusions des expériences précédentes pratiquées par voie veineuse avec les mêmes souches. Toutes les souris inoculées sont mortes, sauf deux, sacrifiées au 96^e jour et au 98^e jour. Tous les animaux présentaient des bacilles dans leurs viscères; les cultures pulmonaires révélèrent la présence du bacille dans 100 % des cas, l'examen direct paraît moins sûr que la culture, la rate est un organe très riche en bacilles, toutes les cultures de tissu splénique, sauf une, révélèrent la présence de bacilles. Le rein constitue encore l'émonctoire des bacilles isoniazidorésistants.

TABLEAU IV

Expérience du 7 janvier 1963.

- Souche Dec.
- Souris grises.
- Voie d'inoculation intrapéritonéale.

Durée de survie	ORGANES					
	Poumon		Rate		Rein	
	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture
M 37 jours	+	+	+	+	+	+
M 42 jours	+	+	0	+	0	+
M 44 jours	+	+	0	+	0	+
M 66 jours	+	+	0	0	0	0
S 96 jours	0	+	0	+	0	0
S 98 jours	+	+	+	+	0	+
M 108 jours	+	+	+	+	+	+

Expérience du 27 avril 1963.

- Souche Jac.
- Souris grises.
- Voie d'inoculation intrapéritonéale.

Durée de survie	ORGANES					
	Poumon		Rate		Rein	
	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture
M 16 jours	+	+	+	+	+	+
M 16 jours	0	+	+	+	+	+
M 16 jours	0	+	+	+	0	+
M 16 jours	+	+	+	+	+	+

Bacilles de Koch isoniazidorésistants.

2 expériences.

2 souches : (Dec. - Jac.).

Inoculés à la souris grise par voie intrapéritonéale.

Survie	EXAMEN DIRECT						CULTURE					
	Poumon		Rate		Rein		Poumon		Rate		Rein	
	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+
0 à 132 jours :												
11 souris...	3	8	4	7	6	5	0	11	4	10	2	9

Pourcentage de positivité de l'inoculation et de positivité viscérale

	Souris +		Souris —		Poumon	Rate	Rein
0 à 132 jours : 11 souris	11		0		100 %	90,9 %	81,8 %

c) *Résultats de l'inoculation par ingestion de bacilles résistants à l'isoniazide.*

Nous avons tenté une inoculation par ingestion de bacilles de la souche Jac. à la souris Swiss, en ajoutant à 30 cm³ de l'eau des biberons des bacilles tuberculeux, les souris venant boire ont ingéré ainsi les bacilles durant trois jours après lesquels nous avons surveillé les animaux qui sont tous morts rapidement, mais il fut impossible de retrouver les bacilles ainsi inoculés dans les trois organes : poumon, rate et rein, des souris soumises à ce mode d'inoculation.

TABLEAU V

Expérience du 5 juin 1963.

- Souche Jac.
- Souris Swiss.
- Voie d'inoculation ingestion.

Durée de survie	O R G A N E S					
	Poumon		Rate		Rein	
	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture
M 8 jours	0	0	0	0	0	0
M 17 jours	0	0	0	0	0	0
M 20 jours	0	0	0	0	0	0
M 44 jours	0	0	0	0	0	0
M 54 jours	0	0	0	0	0	0

La valeur de cette voie d'inoculation nous paraît discutable, la virulence bactériologique des bacilles isoniazidorésistants introduits dans l'organisme de la souris par ingestion se révèle nulle.



CHAPITRE IV

VIRULENCE POUR LA SOURIS DES SOUCHES BCG

TROISIER et SIFFERLEN (141) suivent, par des examens histologiques immédiats et répétés du poumon, le devenir des lésions provoquées par le vaccin de CALMETTE et GUÉRIN, inoculé par instillation à la souris anesthésiée; ainsi ils observent l'évolution des lésions parenchymateuses des poumons de l'animal jusqu'au 60^e jour: ils montrent également l'existence de stades d'infection; dans les 5 premières minutes, arrivée du bacille dans les alvéoles et phagocytose immédiate mais partielle par les cellules monocytaire alvéolaires; puis jusqu'au 21^e jour, stade coniectif avec plages d'alvéolites desquamatives à polynucléaires et hémorragiques, donnant parfois une véritable lobite, mais jamais de nécrose caséuse. A partir du 21^e jour, stade de régression avec quelques lésions discrètes de bronchopneumonie et de petits foyers circonscrits de cellules alvéolaires desquamées et enfin, au 60^e jour, restitution ad integrum du parenchyme pulmonaire.

LEVADITI, VAISMAN et LÉVY (80) recherchant le devenir du bacille de Calmette et Guérin, inoculé par voie intraveineuse chez la souris, par une étude bactériologique des organes de l'animal, détectent la présence de bacilles sur les coupes de foies, de rates et de poumons; ils précisent leur taux et leur apparence. Ils observent alors : « Que les BCG sont décelables dans le poumon, la rate et le foie une longue période de temps après l'inoculation, de 3 à 129 jours, ils offrent tantôt une apparence normale, tantôt l'aspect de germes en voie d'involution ». Le taux des bacilles paraît plus élevé au début de l'expérience, puis diminue ensuite. Les cultures par ensemencement des organes sur LEWENSTEIN permettent de déceler la présence des bacilles cultivables dans les organes de souris jusqu'au 142^e jour. Des granulomes péri-

spléniques et périhépatiques très bacillifères furent observés par LEVADITI et ses col. à la suite d'inoculation intrapéritonéale de BCG et des lésions pulmonaires régressives analogues à celles décrites par SIFFERLEN après inoculation intraveineuse. Ces auteurs reconnaissent, en accord avec les expériences de TROISIER : « Toutefois, les altérations que le BCG engendre sont radicalement différentes de celles produites par le mycobactérium tuberculosis virulent ». Ils émettent l'hypothèse que les granulomes spléniques et hépatiques observés chez la souris, pourraient constituer des dépôts antigéniques, capables de jouer un rôle essentiel dans l'état réfractaire antituberculeux.

STEWART et TOMARGO-SANCHEZ (133) trouvèrent deux souches BCG légèrement virulentes pour la souris et observent rarement la mort des animaux après inoculation mais des lésions pulmonaires généralement régressives et microscopiques fréquentes.

DUBOS, PIERCE et SCHAEFER (30-32-111-112) et de nombreux auteurs comparent sur la souris le pouvoir immunisant des souches de BCG et retrouvent des lésions comparables à celles précédemment décrites; appliquant les méthodes de culture de rates et d'organes de souris sensibilisées à l'infection tuberculeuse par la création de troubles métaboliques et nutritionnels, ils constatent que le taux d'immunité conféré par la vaccination est lié à l'importance de la multiplication des souches de bacilles de Calmette et Guérin; l'INH, interrompant cette multiplication, diminue le pouvoir immunisant du BCG. Ils classent également, grâce aux tests souris, par ordre d'atténuation relative, les diverses sous-souches de BCG, constatant que plus la multiplication des bacilles est abondante chez la souris, plus l'immunité est prompte à s'établir et plus elle est durable. Comme, d'autre part, plus le bacille est apte à survivre et à se reproduire, plus il est capable d'entraîner des manifestations pathologiques chez la souris. Ces chercheurs pensent donc que cet animal pourrait rendre des services dans l'étude du choix des vaccins, la sous-souche de BCG pour la vaccination humaine étant un compromis entre la capacité du vaccin à envahir l'organisme et les risques d'accidents pathologiques.

Des études de PANISSET et BENOIT (105) sur la survie et la multiplication du BCG chez la souris confirment les données précédentes de PIERCE et DUBOS. Par ailleurs, ces chercheurs observent une multiplication importante du BCG dans le foie, la rate qui

atteint son maximum entre la 3^e et la 4^e semaine, après l'inoculation à la souris. La teneur des organes en bacilles diminue ensuite rapidement pour devenir inappréciable; la multiplication des bacilles semble variée en fonction inverse de l'âge des animaux; cette variation de la multiplication est retrouvée dans le temps, c'est pourquoi ces auteurs proposent de préciser le test souris de DUBOS, en utilisant, comme critère de l'activité du BCG, le pouvoir que présente ce bacille à se multiplier dans l'organisme de la souris à la 4^e semaine, par une étude de la rate de l'animal, les recherches portant sur l'ensemble des organes donnant les mêmes résultats.

Après avoir retrouvé l'aspect régressif des rares lésions observées sur les poumons et la rate, GRUMBACH (55) signale, dans divers travaux, l'existence et l'apparition tardive de volumineuses altérations rénales chez la souris inoculée par voie intraveineuse avec des souches BCG. Ces atteintes des reins peuvent se présenter sous la forme d'abcès caséeux, soit microscopiques évoluant alors vers la rétraction cicatricielle, soit plus volumineux et nombreux, le rein hypertrophié est alors bosselé en choux-fleurs, parfois même entièrement transformé en une masse caséreuse où fourmillent les bacilles causant alors la mort des souris. La découverte de telles lésions rénales permettra, par la suite, des études plus précises de la virulence des mycobactéries atypiques qui provoquent fréquemment des altérations anatomopathologiques de cet organe.

CHAPITRE V

VIRULENCE POUR LA SOURIS DES MYCOBACTÉRIES ATYPIQUES

A) RAPPEL HISTORIQUE

Depuis déjà un certain nombre d'années, les divers chercheurs avaient noté la virulence particulière de certaines mycobactéries plus spécialement des bacilles de types aviaires. Dès 1903, DE JONG (24) affirme même que ce bacille serait le seul capable de provoquer une tuberculose expérimentale de la souris. WEBER et BOFINGER (147) constatent que la maladie naturelle de la souris grise serait précisément due à ce bacille aviaire. Ces observations furent retrouvées par de très nombreux chercheurs, tels que KOCH, RABINOWITSCH (75), GRIFFITH (54), COBETT (21), HERMETT HALSWICK (63). Cette virulence des bacilles aviaires pour la souris fut étudiée durant de nombreuses années, mais dans le cadre d'une classification étroite où l'on ne distinguait que quatre catégories de mycobactéries :

- le bacille humain,
- le bacille bovin,
- le bacille aviaire,
- et les paratuberculeux.

L'étude de ces derniers était assez complexe du fait même de l'absence d'une classification valable et l'on peut penser que les résultats d'inoculation à la souris de certains paratuberculeux correspondaient à l'observation de lésions provoquées par certaines de ces mycobactéries dites atypiques. Toutefois, il est difficile de préciser à quelle catégorie des classes actuelles appartiennent ces mycobactéries, du fait des descriptions trop peu précises que nous en laissèrent les chercheurs.

BRANCH (14), le premier, attira l'attention sur des lésions provoquées chez la souris par l'inoculation intrapéritonéale de mycobactéries atypiques.

L'apparition de la classification de RUNYON (119) permit d'apporter une certaine clarté dans l'étude de ces germes nombreux, groupés sous le terme générique de mycobactéries dites « atypiques » ; les résultats de leurs inoculations furent publiés et retrouvés depuis par de nombreux chercheurs.

POLLAK et BUHLER (113) présentant les caractéristiques d'un bacille acido-alcool-résistant dit « Yellow bacillus », auteur d'une maladie de l'homme, constatent : « La pathogénicité varie suivant les espèces animales, pas d'affection évolutive chez le cobaye et le lapin, mais elle provoque des lésions chez la souris et le rat ». Ces chercheurs décrivent ainsi chez la souche de souris CFW, inoculées avec le « Yellow bacillus », la présence de lésions macroscopiques et microscopiques siégeant sur le mésentère, le foie et la rate. Ils constatent également que la cortisone n'accélère pas la multiplication des bacilles.

FENNER (37) étudie la réponse de la souris à l'infection de diverses mycobactéries, il montre que l'inoculation dans la plante de la patte de la souris par les « mycobacterium ulcerans et balnei » pourrait servir de test diagnostique rapide de ces bacilles, mais il ne put provoquer de maladie évolutive par inoculation intranasale, intrapéritonéale et intraveineuse. Cet auteur (38) étudia également l'immunité conférée par ces mycobactéries à la souris.

FELDMAN et KARLSON (36) inoculent en intraveineuse à la souris le mycobacterium ulcerans et, observant une maladie évolutive, ils étudient l'action de divers antibiotiques.

WOLINSKI, SMITH, MITCHELL et STEENKEN (151) rapportent les résultats des travaux expérimentaux d'inoculation intraveineuse à la souris blanche Swiss, de deux souches de mycobactéries photochromogènes. Ils signalent une mortalité élevée chez les animaux ainsi infectés, mais le délai de survie était plus grand qu'avec les mycobactéries virulentes humaines. Ils observent des lésions rénales très étendues. Etudiant quatre souches photochromogènes, STEENKEN, SMITH et MONTALBINE (132) retrouvent des résultats comparables. Ils utilisent ce critère des lésions rénales pour évaluer la résistance de ces germes aux antibiotiques.

KUSHNER, MAC MILLEN et SENDERI (76) après avoir présenté un procédé de culture permettant l'isolement de diverses mycobactéries atypiques « fortuitum, avium, smegmatis, phlei, lacticola » du bacille humain et bovin, publient des résultats d'inoculation intra-péritonéale de « mycobacterium fortuitum » à la souris. ces germes produisent une septicémie à laquelle s'associent des lésions intermédiaires entre l'abcès bactérien et le granulome.

SOLOTOROVSKY, STOCK, IRONSON (129), puis DURR, SMITH et ALTMAN (34) étudient la virulence comparée des mycobactéries atypiques « avium, phlei, smegmatis », photochromogènes et non photochromogènes chez la souris Swiss par des examens macroscopiques, histologiques et bactériologiques directs, ainsi que par des cultures de rates.

En France, Mme GRUMBACH (56), se basant, comme les auteurs précédents, sur la classification de RUNYON, présente des résultats expérimentaux d'inoculation de mycobactéries atypiques à la souris blanche et étudie la localisation pathologique de ces bacilles. Cet auteur constate en particulier que les souches atypiques photochromogènes tuent la souris avec des lésions pulmonaires et rénales simultanées relativement précoces. En ce qui concerne les souches atypiques non photochromogènes, certaines souches tuent la souris avec des lésions pulmonaires et surtout rénales, d'autres ne sont pas virulentes pour la souris. Les souches scotochromogènes ne tuent pas la souris et ne provoqueraient pas de lésion. *Mycobacterium balnei* ne donne que des lésions de la queue et des pattes.

De même, GERNEZ-RIEUX, TACQUET et MACQUET (47) étudièrent le pouvoir pathogène pour la souris de mycobactéries atypiques. Les résultats de leurs expériences confirment les conclusions de Mme GRUMBACH.

Enfin GALE et HENTEL (42) inoculant des mycobactéries photochromogènes en intrapéritonéale à la souris Swiss avec de la mucine, étudient, par des examens histologiques et par des cultures des poumons, de la rate, de l'épiploon et des reins, la virulence de ces mycobactéries.

Aux différentes recherches des auteurs précédents, nous voulons apporter quelques résultats personnels concernant l'inoculation de mycobactéries atypiques à la souris mais nous nous baserons sur la classification utilisée par GERNEZ-RIEUX, TACQUET

et Tison (26) quelque peu différente de celle de Ruxyon qui apparaît actuellement insuffisante.

Nous étudierons successivement l'inoculation des mycobactéries « avium, kansasii, aquae », les groupes de bacilles à croissance rapide « phléi, smegmatis, fortuitum et marium » ayant été injectés à la souris par de nombreux chercheurs.

B) VIRULENCE DE MYCOBACTERIUM AVIUM POUR LA SOURIS

« *Mycobacterium avium* » fut inoculé par de très nombreux chercheurs. SAENZ et COSTIL (120) étudiant la différence de virulence des variantes R et S d'origine aviaire, chez six souris inoculées par voies intrapéritonéale et sous-cutanée, constatent que la variante S entraîne la mort de l'animal avec hypertrophie hépatosplénique et une tuberculose septicémique de type YERSIN. Les frottis d'organes fourmillent de bacilles acido-alcool-résistants. Les variantes R n'entraînent pas la mort et à l'autopsie on retrouve quelques rares abcès épiploïques contenant peu de bacilles, les auteurs concluent : « La variante S se montre très pathogène pour la souris, tandis que la variante R est tout à fait inoffensive ».

STAMATIN (130) présente des résultats d'inoculation de bacilles de type aviaire selon lesquels ces germes seraient moins pathogènes pour la souris inoculée par voie intraveineuse que les bacilles virulents humains ou bovins. Les lésions observées présentent un certain nombre de caractères particuliers par leur siège : foie, rate plus que le poumon, par leur date d'apparition tardive, après deux ou trois mois, par leur aspect hypertrophie splénique et quelques nodules. Toutefois, STAMATIN observe que le bacille de type aviaire, contrairement aux constatations faites par les divers chercheurs, est moins pathogène pour la souris que les bacilles humains et bovins, puisqu'il ne tue la souris qu'après deux mois.

Des résultats d'inoculation de mycobactéries avium cutis ou ulcerans furent décrits par FENNER et ses col. (37), ils observent le caractère particulier des lésions ulcéreuses provoquées, atteignant les régions froides de l'organisme de la souris : pattes, queue, nez et testicules. FELDMAN (36) étudie l'action des antibiotiques sur cette maladie expérimentale de la souris par mycobacterium ulcerans.

Les mycobactéries avium, microti ou bacilles murins furent proposés comme vaccin contre la tuberculose par WELLS, GRIFFITH et BIRKAUG, ils avaient constaté le pouvoir protecteur équivalent au BCG de ce bacille qui donnerait également des masses caséuses, sous-cutanées, ainsi que des nodules ganglionnaires hépatospléniques chez l'animal d'expérience.

C) NOTRE EXPERIMENTATION

Profitant de l'isolement de nombreuses souches de mycobactéries atypiques de divers produits pathologiques, humains et animaux, il nous a paru intéressant de les inoculer à la souris pour étudier leur virulence chez ce rongeur. Les voies d'inoculation intraveineuse, intrapéritonéale et l'ingestion furent utilisées. Les résultats obtenus avec ces différentes voies furent comparés dans deux ou trois séries d'expériences pour chaque souche de mycobactéries étudiées. L'emploi de la voie intraveineuse est réservé de préférence à l'inoculation de la souris blanche. La voie intrapéritonéale, intéressante chez la souris grise, est également utilisée lors d'inoculation de la souris blanche. L'ingestion fut peu employée car, nous l'avons vu précédemment, les résultats obtenus par cette voie sont souvent incertains.

Les souris inoculées appartenaient aux différentes races sélectionnées suivantes : PS, ML, Swiss. En fait, nous n'avons pas tenu compte de la sensibilité particulière des divers groupes de souris aux différentes souches de mycobactéries atypiques, car toutes les souris utilisées présentaient une grande sensibilité aux infections par les mycobactéries.

Nous avons étudié successivement les résultats de l'inoculation de différents groupes de mycobactéries atypiques en nous basant sur la classification proposée par GERNEZ-RIEUX et ses col. dans la thèse de DEVULDER (26). Ainsi, deux séries d'expériences, une pour chaque voie d'inoculation intraveineuse et intrapéritonéale avec un seul groupe de mycobactéries atypiques firent l'objet d'études dont les résultats furent groupés en tableaux réalisés suivant les principes énoncés précédemment. Une première série de tableaux dont les résultats bruts des différentes expériences en fonction de diverses souches de souris et de mycobactéries atypiques inoculées. Les délais de survie et les résultats des examens directs et de cultures des différents viscères sont également notés

sur ces premiers tableaux. Une étude récapitulative des divers résultats des expériences précédentes est portée dans un tableau final. Le rapport du nombre des animaux positifs sur le nombre total des souris inoculées, ainsi que le pourcentage de positivité viscérale des trois organes étudiés, poumon, rate et rein, indépendamment des souches de mycobactéries et des souris, donc pour chaque groupe de mycobactéries atypiques en ne tenant compte que des résultats positifs, firent l'objet de ce tableau récapitulatif.

Ainsi, nous avons étudié l'inoculation de « mycobactérium Kansasii », photochromogène, isolé de produits pathologiques dont cinq souches furent inoculées à la souris par voie veineuse et une par voie intrapéritonéale, puis de « mycobactérium Aquae, groupe 1 », scotochromogène, ayant une activité uréasique importante dont 8 souches furent inoculées par voie veineuse et trois par voie péritonéale, deux de ces souches étaient isolées de suppurations ganglionnaires; enfin de « mycobacterium Aquae II », scotochromogène, mais dénué d'activité uréasique : quatre souches par voie intraveineuse, deux par voie intrapéritonéale. Notons que les souches Cot. et EV 40 proviennent de produits pathologiques vétérinaires plus précisément de thélites nodulaires.

1° Etude de l'inoculation de souches de mycobactérium Kansasii.

Les souches de mycobactéries Kansasii inoculées à la souris lors des expérimentations furent les suivantes :

par voie intraveineuse : 5 souches

Fer - Sim - Aba 5 - Ibo - Cha;

par voie intrapéritonéale : 2 souches

Fer - Aba 5.

Ces souches avaient été isolées de malades atteints de pneumopathies chroniques. Les résultats expérimentaux de ces inoculations sont groupés dans les tableaux suivants :

a) Inoculation intraveineuse de mycobactérium *Kansasii* :

TABLEAU VI

Expérience du 9 juin 1961.

- Souche Fer.
- Souris M. L.
- Voie d'inoculation intraveineuse.

Durée de survie	ORGANES					
	Poumon		Rate		Rein	
	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture
M 189 jours	0	+	0	+	+	+
M 199 jours	0	+	0	+	0	+
M 244 jours	non pratiqué		non pratiqué		0	0
M 278 jours	0	+	0	+	0	0

Expérience du 16 juin 1961.

- Souche Fer.
- Souris M. L.
- Voie d'inoculation intraveineuse.

Durée de survie	ORGANES					
	Poumon		Rate		Rein	
	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture
S 270 jours	0	+	0	0	0	0
M 312 jours	0	+	+	+	0	0
M 534 jours	0	0	0	0	0	0
S 562 jours	0	+	0	+	0	0

Expérience du 27 septembre 1961.

- Souche Fer.
- Souris M. L.
- Voie d'inoculation intraveineuse.

Durée de survie	ORGANES					
	Poumon		Rate		Rein	
	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture
M 28 jours	0	+	0	+	0	+
M 136 jours	0	0	0	0	0	0
M 198 jours	+	+	+	+	0	+
S 227 jours	+	+	+	+	0	0
M 230 jours	+	+	0	+	0	0
S 241 jours	+	+	+	+	0	+
M 242 jours	0	+	+	+	0	0
S 242 jours	+	+	+	+	0	+
M 305 jours	+	+	+	+	0	+
M 350 jours	0	+	0	+	0	0
S 360 jours	+	+	0	+	0	+
S 355 jours	0	+	0	+	0	0
S 376 jours	+	+	0	+	0	0

Expérience du 6 octobre 1961.

- Souche Fer.
- Souris Swiss.
- Voie d'inoculation intraveineuse.

Durée de survie	ORGANES					
	Poumon		Rate		Rein	
	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture
S 180 jours	0	+	0	+	0	+
S 211 jours	0	0	0	+	0	0
S 232 jours	+	+	+	+	0	+
S 245 jours	+	+	0	+	0	0
M 249 jours	0	+	0	+	0	0
M 283 jours	0	+	+	+	0	0
M 304 jours	+	+	0	+	0	0
S 331 jours	0	+	0	+	0	0
M 336 jours	0	+	0	0	0	0
S 340 jours	+	+	+	+	0	0
S 395 jours	+	+	+	+	0	0
S 397 jours	0	+	0	+	0	0

Expérience du 12 octobre 1961.

- Souche Fer.
- Souris P. S.
- Voie d'inoculation intraveineuse.

Durée de survie	ORGANES					
	Poumon		Rate		Rein	
	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture
M 18 jours	+	+	+	contaminé	0	+
M 56 jours	+	+	+	+	0	contaminé
M 98 jours	0	+	0	+	0	0
M 104 jours	+	+	+	+	+	+
M 118 jours	0	+	0	+	0	0
M 124 jours	0	contaminé	0	contaminé	0	0
M 189 jours	+	+	+	+	0	+
M 199 jours	+	+	0	+	0	0
S 199 jours	0	0	0	0	0	0

Expérience du 3 novembre 1961.

- Souche Fer.
- Souris Swiss.
- Voie d'inoculation intraveineuse.

Durée de survie	ORGANES					
	Poumon		Rate		Rein	
	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture
M 33 jours	+	+	+	+	0	+
M 91 jours	0	0	0	0	0	0
M 134 jours	+	+	+	+	+	+
M 188 jours	+	+	0	+	0	0
M 227 jours	+	+	+	+	+	+
M 247 jours	+	+	+	+	+	+
S 256 jours	+	+	+	+	0	+

Expérience du 7 décembre 1962.

- Souche Abat.
- Souris Swiss.
- Voie d'inoculation intraveineuse.

Durée de survie	ORGANES					
	Poumon		Rate		Rein	
	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture
M 16 jours		0		+		0
M 16 jours		0		0		+
M 16 jours		+		0	0	0
S 331 jours	0	0	0	0	0	0
M 368 jours	0	0	0	0	0	0
S 378 jours	0	+	0	+	0	+
S 389 jours	0	0	0	0	0	0
S 392 jours	0	+	0	+	0	+
S 395 jours	0	0	0	+	0	0

Expérience du 8 décembre 1961.

- Souche Sim.
- Souris Swiss.
- Voie d'inoculation intraveineuse.

Durée de survie	ORGANES					
	Poumon		Rate		Rein	
	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture
M 13 jours		+		+		+
M 18 jours	0	+	Foie 0	+	0	+
M 18 jours	+	+	0	+	+	+
M 20 jours	+	+	+	+	+	+
M 82 jours	+	+	+	+	+	+
M 110 jours	+	+	+	+	+	+
M 300 jours	+	+	+	+	+	+
M 333 jours	+	+	+	+	+	+
S 383 jours	0	+	0	+	0	0

Expérience du 19 décembre 1961.

- Souche Sim.
- Souris M. L.
- Voie d'inoculation intraveineuse.

Durée de survie	ORGANES					
	Poumon		Rate		Rein	
	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture
M 56 jours	0	+	0	+	0	+
M 197 jours	+	+	+	+	0	+
M 257 jours	+	+	+	+	0	+
S 219 jours	+	+	+	+	0	+
S 278 jours	0	+	0	+	0	0
M 284 jours	+	+	+	+	0	+
M 334 jours	+	+	+	+	0	+
S 370 jours	+	+	+	+	0	+
S 375 jours	+	+	0	+	0	0

Expérience du 12 mars 1963.

- Souche Ibo.
- Souris Swiss.
- Voie d'inoculation intraveineuse.

Durée de survie	ORGANES					
	Poumon		Rate		Rein	
	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture
M 39 jours	0	+	+	+	0	+
M 58 jours	+	+	+	+	+	+
M 99 jours	+	0	+	0	+	0
M 144 jours	0	0	0	0	0	0

Expérience du 12 mars 1963.

- Souche Cha.
- Souris P.S.
- Voie d'inoculation intraveineuse.

Durée de survie	ORGANES					
	Poumon		Rate		Rein	
	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture
M 27 jours	+	+	+	+	0	+
M 39 jours	+	+	+	+	0	+
M 80 jours	0	0	0	0	0	0
S 112 jours	+	+	+	+	0	+

D'après ces tableaux, on constate les faits suivants :

Les souches de mycobactéries « *Kansasii* » présentent une virulence certaine pour la souris inoculée par voie intraveineuse; en effet, les bacilles sont fréquemment retrouvés dans les viscères examinés et le nombre des souris positives, tant à l'examen direct qu'après culture de leurs organes, est élevé. De 0 à 132 jours, 30 fois contre 4, les bacilles étaient présents chez l'animal et, du 132^e au 365^e jour, 42 fois contre 5. La souris infectée ne meurt pas toujours de maladie évolutive consécutive à l'inoculation de ces mycobactéries. Il paraît donc difficile de juger de la virulence de ces bacilles sur le seul taux de mortalité des souris inoculées, car les animaux sacrifiés après un an présentaient encore des bacilles aux différents examens pratiqués. En effet, neuf fois la recherche des mycobactéries *Kansasii*, sur 11 animaux inoculés et survivants, révèlent l'existence de bacilles chez ces souris. La persistance et la multiplication de ces mycobactéries chez l'animal d'expérience témoignent d'un degré certain de virulence chez la souris. L'examen direct et les cultures des viscères de la souris sacrifiée au 199^e jour, après l'inoculation du 12 octobre 1961, totalement négatifs, peuvent être considérés comme consécutifs à une erreur d'inoculation, on ne trouve aucune mycobactérie, ni à l'examen direct, ni par les cultures, c'est probablement que la souris n'a pas été, en réalité, inoculée par voie intraveineuse.

L'étude du pourcentage de positivité viscérale et l'examen des résultats expérimentaux nous permettent de conclure que le principal réservoir de bacilles paraît être la rate, en effet, les mycobactéries « *Kansasii* » sont retrouvées dans cet organe dans 90 à 95 % des cas, du 1^{er} au 365^e jour, puis, dans 100 % des cas, après un an. Certaines expériences sont particulièrement intéressantes à ce sujet. L'ensemble des résultats des cultures de tissu splénique effectuées à partir de rates de souris inoculées avec les mycobactéries *Kansasii* de la souche Fer sont positives, sauf une pour chaque expérience; signalons, par ailleurs, que les examens directs, comme les cultures des autres organes, restèrent négatifs précisément dans ces cas, ce qui nous permet de penser qu'il pourrait s'agir là de ratés de l'expérimentation. Ces résultats expérimentaux révèlent donc que la rate représente le viscère le plus souvent atteint et le plus riche en bacilles.

Les poumons se comportent comme un réservoir important de mycobactéries *Kansasii*. En effet, les bacilles sont présents dans

ce tissu, dans une proportion voisine de celle de la rate. Les résultats des cultures de tissu pulmonaire des expériences pratiquées avec les souches Fer - Sim et Ibo sont superposables aux résultats des cultures de rate avec les mêmes souches. Le pourcentage de positivité viscérale du poumon est cependant inférieur à celui du tissu splénique, car les souches autres de mycobactérium *Kansasii* ne sont pas retrouvées aussi fréquemment dans ce viscère que dans la rate. Les examens directs du poumon paraissent cependant révéler plus souvent la présence des bacilles que ceux du tissu splénique, mais la différence est faible et ne semble s'accroître qu'au bout d'un certain temps.

Le rein se comporte comme un émonctoire de bacilles. La teneur de cet organe en mycobactéries, relativement élevée au début, diminue progressivement ensuite, on remarque, par ailleurs, qu'elle n'est jamais très importante: 66,6 %. L'examen direct de ce tissu est très souvent négatif et les cultures, positives au début de l'expérimentation, se négativent également ensuite. L'expérience du 16 juin 1961, dont les résultats ne sont donnés qu'après le 270^e jour, illustre bien ce fait, les examens du rein sont tous négatifs tant par la culture qu'à l'observation directe.

Mycobactérium *Kansasii* se rapproche beaucoup du bacille tuberculeux virulent. La maladie expérimentale se propage par voie hématogène. Les viscères contenant le plus grand nombre et le plus souvent des bacilles sont donc, par ordre décroissant : la rate, le poumon et le rein.

Le grand nombre de mycobactéries rencontrées dans la rate confirme les observations des auteurs qui avaient remarqué la richesse extraordinaire de cet organe en bacilles. Des études du foie par examen direct et par cultures furent effectuées au cours de l'expérimentation du 9 juin 1961, sur une souris inoculée avec la souche Fer et au cours de l'expérimentation du 8 décembre 1961 sur une souris inoculée avec la souche Sim. Les résultats furent analogues à ceux que l'on aurait pu obtenir par des cultures de tissus spléniques.

La proportion importante de souris mortes après l'inoculation de ces mycobactéries *Kansasii* confirme l'existence d'une virulence certaine de ces souches.

b) Inoculation intrapéritonéale de mycobactérium *Kansasii* :

Deux séries d'expériences d'inoculation intrapéritonéale de mycobactéries *Kansasii* furent réalisées : la première avec la

souche Aba 5 chez la souris grise, la couleur de ces souris rendant difficile le repérage des veines caudales et faisant préférer cette voie d'inoculation. Une seconde série d'expériences fut réalisée chez la souris blanche à des fins de comparaison de l'influence des voies d'inoculation.

TABLEAU VII

Expérience du 9 novembre 1961.

- Souche Fer.
- Souris Swiss.
- Voie d'inoculation intrapéritonéale.

Durée de survie	ORGANES					
	Poumon		Rate		Rein	
	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture
M 39 jours	0	+	0	+	+	+
S 149 jours	0	+	+	+	0	+
M 181 jours	+	+	+	+	0	+
M 213 jours	+	+	+	+	0	+

Survie	EXAMEN DIRECT						CULTURE					
	Poumon		Rate		Rein		Poumon		Rate		Rein	
	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+
0 à 132 jours :												
1 souris....	1		1			1	1		1		1	
133 à 365 jrs :												
3 souris....	1	2		3	3		3		3		3	

Expérience du 12 novembre 1962.

- Souris Aba 5.
- Souris grises.
- Voie d'inoculation intrapéritonéale.

Durée de survie	ORGANES					
	Poumon		Rate		Rein	
	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture	Culture	Culture
S 58 jours	0	0	+	0	0	0
M 86 jours	+	0	+	0	0	0
M 87 jours	0	0	+	0	0	0
M 100 jours	0	0	0	0	0	0
S 130 jours	0	0	+	0	0	0
M 188 jours	+	0	+	0	0	0
M 203 jours	0	0	+	0	0	0
S 213 jours	0	0	0	0	0	0
M 234 jours	0	0	0	0	0	0

Les résultats de ces expériences confirment ceux obtenus par voie intraveineuse. « *Mycobactérium Kansasii* » inoculé par voie intrapéritonéale présente une virulence encore marquée pour la souris. Mais les différences entre la richesse en bacilles des divers viscères sont encore plus nettes que par inoculation intraveineuse. On constate qu'avec la souche Aba 5 les examens directs révèlent la présence de bacilles, dans 90 % des cas, dans la rate, dans 50 % des cas, dans le poumon et que les cultures, comme l'observation directe des reins, restent négatives dans tous les cas. Après inoculation intrapéritonéale avec la souche Fer, l'atteinte plus marquée des viscères abdominaux apparaît; en effet, le rein et la rate surtout constituent des réservoirs de bacilles plus riches que le poumon. Toutefois, le rôle d'élimination du rein apparaît encore, car si les bacilles sont retrouvés dans cet organe à l'examen direct, dans les 40 premiers jours, les cultures sont ensuite nécessaires pour les mettre en évidence.

Donc, comme l'inoculation intraveineuse, l'utilisation de la voie intrapéritonéale entraîne des résultats comparables lorsque l'on cherche à étudier l'infection expérimentale de la souris par « *Mycobactérium Kansasii* ». Si l'on considère comme test d'activité pathogène la persistance du bacille dans un organisme, on peut affirmer que « *Mycobactérium Kansasii* » présente une virulence bactériologique certaine chez la souris inoculée, tant par voie intraveineuse que par voie péritonéale; il y a toujours des mycobactéries présentes au niveau du poumon de la rate et plus rarement des reins des animaux inoculés.

2° Etude de l'inoculation de souches de *Mycobactérium Aquae* :

Les études de l'activité des mycobactéries *Aquae*, types I et II, chez la souris, donnèrent des résultats différents.

a) Inoculation intraveineuse de *Mycobactérium Aquae*, groupe I :

Deux souches de mycobactéries *Aquae*, type I, Pay et Bou, isolées de suppurations cutanées et ganglionnaires d'enfants, donc pathogènes pour l'homme, furent inoculées à la souris Swiss et ML. Les résultats expérimentaux sont groupés dans les tableaux suivants :

TABLEAU VIII

MYCOBACTÉRIUM AQUAE I

Souches isolées de suppurations ganglionnaires humaines

Expérience du 30 janvier 1962.

- Souche Bou.
- Souris Swiss.
- Voie d'inoculation intraveineuse.

Durée de survie	ORGANES					
	Poumon		Rate		Rein	
	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture
M 8 jours	0	+	0	0	0	0
M 34 jours	0	+	+	+	0	+
M 34 jours	0	+	+	0	+	0
M 48 jours	0	0	0	0	0	0
M 80 jours	0	0	0	0	0	0
M 142 jours	0	0	0	0	0	0
M 153 jours	0	0	0	0	0	0
M 168 jours	0	+	0	0	0	0
M 178 jours	0	0	0	0	0	0
M 282 jours	+	+	+	0	0	0

Expérience du 4 avril 1962.

- Souche Pay.
- Souris ML₂.
- Voie d'inoculation intraveineuse.

Durée de survie	ORGANES					
	Poumon		Rate		Rein	
	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture
M 8 jours	0	0	0	0	0	0
M 35 jours	0	0	0	0	0	+
M 55 jours	0	+	+	+	0	0
M 82 jours	+	0	0	0	0	0
M 82 jours	+	+	+	0	+	0
M 72 jours	0	0	0	+	0	0
M 84 jours	+	+	+	+	0	0
S 185 jours	0	+	0	+	0	+
S 275 jours	0	+	+	+	0	0
S 318 jours	0	0	0	0	0	0
S 325 jours	0	0	+	0	0	0

Expérience du 20 avril 1962.

- Souche Pay.
- Souris Swiss.
- Voie d'inoculation intraveineuse.

Durée de survie	ORGANES					
	Poumon		Rate		Rein	
	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture
M 33 jours		+		+		+
S 150 jours	0	0	0	0	0	0
S 160 jours	0	0	0	0	0	0
S 168 jours	0	0	0	0	0	0
S 189 jours	0	+	+	+	0	+
S 205 jours	0	+	+	+	0	+
S 252 jours	0	0	0	+	0	0
S 258 jours	0	0	0	0	0	0

Expérience du 2 avril 1962.

- Souche Pay.
- Souris Swiss.
- Voie d'inoculation intraveineuse.

Durée de survie	ORGANES					
	Poumon		Rate		Rein	
	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture
M 33 jours	0	+	+	+	0	+

MYCOBACTÉRIES — GROUPE AQUAE I

Résumé de 4 expériences concernant *Mycobacterium Aquae* 1.

- 4 expériences.
- 2 souches : Pay, Bou.
- Inoculées par voie intraveineuse à la souris blanche.

Survie	EXAMEN DIRECT						CULTURE					
	Poumon		Rate		Rein		Poumon		Rate		Rein	
	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+
0 à 132 jours :												
14 souris...	10	3	7	6	11	2	6	8	8	6	10	4
133 à 365 jrs :												
16 souris...	15	1	11	5	16	0	10	6	11	5	10	6

Pourcentage de positivité de l'inoculation et de positivité viscérale

	Souris +	Souris —	Poumon	Rate	Rein
0 à 132 jrs : 14 sour.	11	3	81,9 %	72,7 %	54,5 %
133 à 365 jrs : 16 sour.	8	8	75 %	87,5 %	25 %

La virulence de ces mycobactéries se montre plus faible pour la souris. Le pourcentage des résultats négatifs est relativement important. Les mycobactéries Aquae I peuvent être mises en évidence tant à l'examen direct qu'à la culture de viscères de 11 souris sur 30 inoculées. Le taux de présence des mycobactéries dans les organes des animaux reste bas. La mortalité des souris diminue rapidement et les animaux doivent être souvent sacrifiés. Les mycobactéries Aquae I sont donc rapidement éliminées des viscères car le pourcentage de positivité diminue au fur et à mesure de la survie.

Les mycobactéries semblent persister dans le tissu splénique assez longtemps; le pourcentage des cultures et des examens directs positifs de la rate apparaît plus grand après 133 jours, mais le bacille reste absent d'un certain nombre de rates d'animaux, même après ce délai.

Inversement, le bacille siège plus fréquemment au niveau du poumon au début de l'expérimentation et cette atteinte pulmonaire précoce est alors supérieure à celle de la rate, elle diminue ensuite : le bacille quitte donc rapidement le poumon.

Le rein apparaît encore comme l'organe d'élimination des bacilles, la teneur de ce viscère en mycobactéries, sans être d'ailleurs jamais très élevée, diminue progressivement.

Cette avirulence relative des mycobactéries de souche Aquae, type I, est retrouvée encore plus nette lorsque l'on considère les résultats d'expériences au cours desquelles 6 souches de mycobactéries Aquae I : M Eli - Dec - Per - Boi - Syl et Ben furent inoculées à des souris blanches par voie intraveineuse. Les résultats expérimentaux sont donnés par ces tableaux :

TABLEAU IX

AQUAE I

Mycobacterium Aquae I, souches saprophytes

Expérience du 27 octobre 1961.

- Souche M. Eli.
- Souris M.L.
- Voie d'inoculation intraveineuse.

Durée de survie	ORGANES					
	Poumon		Rate		Rein	
	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture
M 116 jours	0	0	0	0	0	0
S 162 jours	0	0	0	0	0	0
S 179 jours	0	0	0	0	0	0
S 193 jours	0	0	0	0	0	0
M 214 jours			0	0	0	0
S 214 jours	0	0	0	0	0	0
S 228 jours	0	0	0	0	0	0
S 374 jours	0	0	0	0	0	0
S 378 jours	0	0	0	0	0	0

Expérience du 9 novembre 1963.

- Souche M. Eli.
- Souris PS.
- Voie d'inoculation intraveineuse.

Durée de survie	ORGANES					
	Poumon		Rate		Rein	
	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture
M 95 jours	0	0	0	0	0	0
M 131 jours	0	0	0	0	0	0
S 211 jours	0	0	0	0	0	0
S 225 jours	0	0	0	0	0	0
S 230 jours	0	0	0	0	0	0

Expérience du 8 juin 1962.

- Souche Per.
- Souris Swiss.
- Voie d'inoculation intraveineuse.

Durée de survie	ORGANES					
	Poumon		Rate		Rein	
	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture
M 22 jours	0	0	+	+	0	0
M 22 jours	+	+	+	+	+	+
M 92 jours	0	0	0	0	0	0
M 159 jours	0	+	+	+	0	0
S 210 jours	0	0	+	0	0	0
S 276 jours	0	+	0	0	0	0
S 287 jours	0	+	0	0	0	0

Expérience du 10 avril 1963.

- Souche Ben.
- Souris Swiss.
- Voie d'inoculation intraveineuse.

Durée de survie	ORGANES					
	Poumon		Rate		Rein	
	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture
M 22 jours	0	contaminé	0	+	0	+
M 37 jours	+	+	+	0	0	0
M 114 jours	0	0	0	0	0	0

Expérience du 18 septembre 1962.

- Souche Syl
- Souris ML.
- Voie d'inoculation intraveineuse.

Durée de survie	ORGANES					
	Poumon		Rate		Rein	
	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture
M 11 jours	0	+	+	+	0	+
M 23 jours	+	+	+	+	+	+
M 25 jours	0	0	0	+	0	0
M 38 jours	0	0	0	+	0	0
M 64 jours	0	0	0	0	0	0
M 66 jours	+	0	+	0	0	0

Expérience du 28 novembre 1962.

— Souche Dec.

— Souris Swiss.

Voie d'inoculation intraveineuse.

Durée de survie		ORGANES					
		Poumon		Rate		Rein	
		Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture
M	40 jours	0	0	0	0	0	0
S	47 jours	0	0	0	0	0	0
S	83 jours	0	0	0	0	0	0
S	85 jours	0	0	0	0	0	0
M	105 jours	0	0	0	0	0	0
M	109 jours	0	0	0	0	0	0
S	112 jours	0	0	0	0	0	0

Expérience du 6 octobre 1962.

— Souche Boi.

— Souris Swiss.

— Voie d'inoculation intraveineuse.

Durée de survie		ORGANES					
		Poumon		Rate		Rein	
		Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture
M	10 jours	+	+	+	+	0	+
M	10 jours	+	+	+	+	+	+
M	16 jours	0	+	0	0	0	0
M	16 jours	+	+	+	+	0	0
M	27 jours	+	0	+	0	0	0
S	30 jours	0	+	+	+	0	+
M	115 jours	0	0	+	0	0	0

MYCOBACTÉRIES — GROUPE AQUAE I (autre que Pay et Bou)

Résumé de 7 expériences concernant *Mycobacterium Aquae* I.

— 7 expériences.

— 6 souches (M. Eli, Dec., Per., Boi., Syl., Ben.).

— Inoculées par voie intraveineuse à la souris blanche.

Survie	EXAMEN DIRECT						CULTURE					
	Poumon		Rate		Rein		Poumon		Rate		Rein	
	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+
0 à 132 jours :												
28 souris...	20	8	17	11	25	3	18	9	17	11	20	8
133 à 365 jrs :												
13 sour., une sans poumon	12	0	11	2	13	0	9	3	12	1	13	0
Au delà de 365 jrs : 2 sour.	2		2		2		2		2		2	

Pourcentage de positivité de l'inoculation et de positivité viscérale

	Souris +	Souris —	Poumon	Rate	Rein
0 à 132 jrs : 28 sour.	15	13	73,3 %	93,3 %	53,3 %
133 à 365 jrs : 13 sour.	4	9	75 %	50 %	0 %
Au delà de 365 jours : 2 souris	0	2			

Les souches de mycobactéries *Aquae* I, bien qu'isolées de produits pathologiques, expectoration en particulier, se comportèrent chez la souris comme des germes saprophytes; en effet, au début de l'expérimentation, on rencontre encore quelques bacilles au cours des examens et des cultures des organes des souris inoculées par voie veineuse. Chez 15 animaux sur 28, les mycobactéries *Aquae* étaient présentes dans les 132 premiers jours, puis seulement chez 4 souris sur 15 ensuite, dont 13 durent être sacrifiées. L'infection expérimentale par les mycobactéries *Aquae* I, souches M Eli - Dec - Pen - Boi - Syl et Ben, est donc minime. Ces mycobactéries présentent une pathogénicité très atténuée pour la souris et seulement durant les premiers jours après l'inoculation; en effet, les résultats obtenus 60 jours après les inoculations du 27 octobre 1961 et du 9 novembre 1961, avec la souche M Eli, comme d'ailleurs après celle du 28 novembre 1962 avec la souche Dec furent tous négatifs tant aux cultures qu'aux examens directs.

Les mycobactéries étaient donc éliminées rapidement et, ne persistant pas dans l'organisme, présentaient une virulence bactériologique nulle pour la souris. On remarque d'ailleurs que si les examens effectués dans les 100 premiers jours furent positifs dans un certain nombre de cas, ceux-ci avaient été pratiqués le plus souvent après sacrifice de l'animal, les souches de mycobactéries atypiques *Aquae I* n'entraînant pas de lésions mortelles chez les souris inoculées.

Si l'on considère le pourcentage de positivité viscérale pour chaque organe étudié, on constate que la rate contient encore fréquemment des bacilles, ainsi que le poumon. Dans les 100 premiers jours, le rein présente des bacilles une fois sur deux environ, mais passé ce délai il est impossible de mettre en évidence des mycobactéries dans le tissu rénal, alors que l'on peut encore les rencontrer dans la rate, dans la moitié des cas, et dans le poumon dans 75 % des cas, si l'on ne tient compte que des résultats positifs.

b) Inoculation intrapéritonéale de Mycobactérium Aquae I :

Cet aspect saprophyte des souches *Aquae I* fut retrouvé après inoculation en intrapéritonéale de trois souches Bel - Ben et Mon. à la souris grise.

TABLEAU X

MYCOBACTERIUM AQUAE I

Expérience du 1^{er} mai 1963.

- Souche Mon.
- Souris grises.
- Voie d'inoculation intrapéritonéale.

Durée de survie	ORGANES					
	Poumon		Rate		Rein	
	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture
M 64 jours	0	0	0	0	0	0
M 72 jours	0	0	0	0	0	0
M 76 jours	0	0	0	0	0	0
M 77 jours	0	0	0	0	0	0

Expérience du 12 avril 1963.

- Souche Ben.
- Souris grises.
- Voie d'inoculation intrapéritonéale.

Durée de survie	ORGANES					
	Poumon		Rate		Rein	
	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture
M 55 jours	0	0	+	0	0	0
M 55 jours	0	0	0	0	0	0

Expérience du 18 juin 1963.

- Souche Bel.
- Souris grises.
- Voie d'inoculation intrapéritonéale.

Durée de survie	ORGANES					
	Poumon		Rate		Rein	
	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture
M 6 jours	+	0	0	0	0	0
M 20 jours	0	0	0	0	0	0

MYCOBACTÉRIES — GROUPE AQUAE I

Résumé de 3 expériences concernant *Mycobacterium Aquae* 1.

- 3 expériences.
- 3 souches (Mon., Ben., Bel.).
- Inoculées par voie intrapéritonéale à la souris grise.

Survie	EXAMEN DIRECT						CULTURE					
	Poumon		Rate		Rein		Poumon		Rate		Rein	
	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0
0 à 132 jours :												
8 souris....	7	1	7	1	8		8	0	8	0	8	0

Les résultats expérimentaux sont probants, tous négatifs dans l'ensemble. Il est impossible de mettre en évidence les mycobactéries inoculées tant quelques jours après l'expérimentation que plus tard, l'élimination des germes est donc très rapide. Seulement une fois dans le poumon et une fois dans la rate on retrouva à l'examen direct des mycobactéries et ceci à condition de pratiquer un examen précoce dans les 50 premiers jours.

2) Inoculation par ingestion de *Mycobacterium Aquae* I :

Des essais d'inoculation par ingestion furent tentés avec la souche *Aquae* I - Bel. Ils ne donnèrent que des résultats négatifs.

La seule colonie obtenue par culture sur milieu de coletsos était probablement due à une contamination.

TABLEAU XI

Expérience du 12 juin 1963.

- Souche Bel.
- Souris ML.
- Voie d'inoculation ingestion.

Durée de survie	ORGANES					
	Poumon		Rate		Rein	
	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture
M 2 jours	0	0	0	0	0	0
M 2 jours	0	0	0	0	0	0
M 8 jours	0	0	0	0	0	0
M 8 jours	0	0	0	0	0	0
M 14 jours	0	0	0	0	0	0
M 32 jours	0	0	0	+	0	0
				coletsos		
				une colonie		
M 44 jours	0	0	0	0	0	0

Expérience du 8 août 1963.

- Souche Mon.
- Souris Swiss.
- Voie d'inoculation ingestion.

Durée de survie	ORGANES					
	Poumon		Rate		Rein	
	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture
M 6 jours	0	0	0	0	0	0
M 61 jours	0	0	0	0	0	0

d) Inoculation intraveineuse de *Mycobacterium Aquae* II :

28 souris blanches furent inoculées au cours de quatre expériences avec 4 souches de mycobactéries atypiques *Aquae*, type II.

Deux de ces souches, Mou - Mer, avaient été isolées de produits pathogènes, mais ne possédaient pas d'activité propre. Deux autres souches, Cot et EV 40, proviennent de produits vétérinaires, plus exactement de thélites nodulaires de vaches laitières. Les résultats expérimentaux sont portés sur les tableaux suivants :

TABLEAU XII

AQUAE II

Expérience du 14 février 1962.

- Souche Cot.
- Souris ML.
- Voie d'inoculation intraveineuse.

Durée de survie	ORGANES					
	Poumon		Rate		Rein	
	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture
M 103 jours	0	0	0	0	0	0
M 110 jours	+	+	+	+	0	+
M 115 jours	0	0	0	0	0	0
M 117 jours	0	0	0	0	0	0
M 118 jours	0	0	0	0	0	0
M 124 jours	0	0	0	0	0	0

Expérience du 1^{er} juin 1962.

- Souche Mer.
- Souris Swiss.
- Voie d'inoculation intraveineuse.

Durée de survie	ORGANES					
	Poumon		Rate		Rein	
	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture
M 34 jours	+	0	+	0	0	0
M 45 jours	0	0	0	0	0	0
M 47 jours	0	0	0	0	0	0
M 47 jours	0	0	0	0	0	0
M 81 jours	0	+	0	0	0	0
M 91 jours	0	0	0	0	0	0
M 115 jours	0	0	0	0	0	0
M 171 jours	0	0	0	0	0	0
M 171 jours	0	0	0	0	0	0

Expérience du 1^{er} mai 1962.

- Souche Mou.
- Souris PS.
- Voie d'inoculation intraveineuse.

		ORGANES					
Durée de survie		Poumon		Rate		Rein	
		Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture
M 6 jours		0	+	0	+	0	0
M 65 jours		0	0	0	0	0	0
M 100 jours		0	0	0	0	0	0
M 103 jours		0	0	0	0	0	0
M 110 jours		0	0	0	0	0	0
M 110 jours		0	0	0	0	0	0
M 110 jours		0	0	0	0	0	0
M 111 jours		0	0	0	0	0	0
M 113 jours		0	0	0	0	0	0

Expérience du 14 novembre 1962.

- Souche EV 40.
- Souris ML.
- Voie d'inoculation intraveineuse.

		ORGANES					
Durée de survie		Poumon		Rate		Rein	
		Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture
M 8 jours		0	+	+	+	0	+
M 22 jours		0	0	0	+	0	0
M 33 jours		0	0	+	0	0	0
M 62 jours		0	+	+	+	0	0

MYCOBACTÉRIES — GROUPE AQUAE II

- 4 expériences.
- 4 souches (Mou., Mer., Cot., EV 40).
- Inoculées à la souris blanche par voie intraveineuse.

Survie	EXAMEN DIRECT						CULTURE					
	Poumon		Rate		Rein		Poumon		Rate		Rein	
0 à 132 jours :	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+
26 souris...	24	2	24	5	26		24	5	24	5	24	2
133 à 365 jrs :												
2 souris...	2		2		2		2		2		2	

Pourcentage de positivité de l'inoculation et de positivité viscérale

	Souris +	Souris —	Poumon	Rate	Rein
0 à 132 jrs : 26 souris	8	18	75 %	87 %	25,1 %
133 à 365 jrs : 2 souris	0	2	0 %	0 %	0 %

L'inoculation intraveineuse de ces mycobactéries Aquae II ne produit pas de maladie évolutive chez la souris; bien plus, un grand nombre de recherches de bacilles, soit par examen direct, soit par culture, furent négatives.

Le nombre des souris infectées et présentant encore quelques bacilles dans leurs viscères est faible, 8 sur 28 animaux. Les mycobactéries Aquae II ne sont retrouvées que durant les 132 premiers jours.

La rate, mais également le poumon, sont encore les principaux réservoirs de bacilles. Toutefois, l'élimination de ces mycobactéries est rapide et totale puisque, après 110 jours, on ne put mettre en évidence les bacilles inoculés chez aucun des animaux d'expérience. Si l'on admet quelques erreurs dues à une mauvaise technique d'inoculation, il reste cependant un grand nombre de résultats négatifs, sauf peut-être pour la souche EV 40 qui manifeste une certaine virulence bactériologique.

En conclusion, il semble que les souches Aquae II se comportent comme des saprophytes, pas de persistance, ni de multiplication des souches chez la souris.

e) Inoculation intrapéritonéale de Mycobactérium Aquae II :

Les résultats obtenus par inoculation intrapéritonéale sont comparables. En effet, considérons le tableau suivant :

TABLEAU XIII

Expérience du 2 juillet 1962.

- Souche Cot.
- Souris Swiss.
- Voie d'inoculation intrapéritonéale.

Durée de survie	ORGANES					
	Poumon		Rate		Rein	
	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture
M 147 jours	0	0	0	0	0	0
M 177 jours	0	0	0	0	0	0
M 255 jours	0	0	0	0	0	0
M 266 jours	0	0	0	0	0	0

Expérience du 13 juillet 1962.

- Souche EV 40.
- Souris Swiss.
- Voie d'inoculation intrapéritonéale.

Durée de survie	ORGANES					
	Poumon		Rate		Rein	
	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture
M 126 jours	0	0	+	0	0	0
M 136 jours	0	0	0	0	0	0
M 137 jours	0	0	+	0	0	0
M 145 jours	0	0	+	0	0	0
S 235 jours	0	+	0	+	0	0
S 272 jours	0	0	0	0	0	0
S 269 jours	0	0	0	0	0	0
S 337 jours	0	0	0	0	0	0
S 352 jours	0	0	0	0	0	0

MYCOBACTÉRIES — GROUPE AQUAE II

- 2 expériences.
- 2 souches (Cot., EV 40).
- Inoculées par voie intrapéritonéale à la souris blanche.

Survie	EXAMEN DIRECT						CULTURE					
	Poumon		Rate		Rein		Poumon		Rate		Rein	
	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+
0 à 132 jours :												
1 souris....	1	0		1	1		1		1		1	
133 à 365 jrs :												
12 souris...	12		10	2	12		11	1	11	1	12	

Pourcentage de positivité de l'inoculation et de positivité viscérale

	Souris +	Souris —	Poumon	Rate	Rein
0 à 132 jrs : 1 souris	1	0	0 %	100 %	0 %
133 à 365 jrs : 12 souris	3	9	33,3 %	100 %	0 %

Expérience du 19 novembre 1962.

- Souris grises.
- Souche EV 40.
- Voie d'inoculation intrapéritonéale.

Durée de survie	ORGANES					
	Poumon		Rate		Rein	
	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture
M 66 jours	0	0	+	0	0	0
M 66 jours	+	0	+	0	0	0
M 68 jours	0	0	0	0	0	0
M 68 jours	0	0	0	0	0	0
M 70 jours	0	+	0	+	0	+
M 70 jours	0	+	0	+	0	+
M 70 jours	0	contaminé	+	+	0	+
M 71 jours	0	+	+	+	0	0
M 94 jours	0	0	+	0	0	0
S 98 jours	0	0	+	+	0	+
S 136 jours	0	0	+	0	0	0

Nous constatons que la seule souche manifestant encore une certaine virulence bactériologique chez la souris blanche et grise est précisément la souche EV 40 qui entraîna des lésions de types abcès chez les bovidés d'où elle fut isolée. En effet, seule la mycobactérie Aquae II, EV 40, présente une activité pathogène pour la souris inoculée par voie intrapéritonéale, elle est retrouvée au niveau du poumon et de la rate, voire même des reins, à divers examens, alors que la souche Cot. ne donne que des résultats négatifs.

En conclusion :

1° Nous constatons un parallélisme étroit entre l'activité pathogène des mycobactéries atypiques considérées tant chez l'homme que chez l'animal et la virulence bactériologique de ces mêmes bacilles chez la souris. En effet, « *Mycobacterium Kansassii* » responsable de maladies humaines, se comporte comme la souche la plus virulente chez la souris, d'une virulence bactériologique voisine de celle du bacille tuberculeux;

2° Les souches Aquae I, Pay et Bou, isolées des suppurations ganglionnaires d'enfants manifestent, à un degré moindre que les mycobactéries Kansassii, une certaine activité pathogène pour la souris;

3° De même la souche *Aquae II*, EV 40, retirée de thélite nodulaire, se montra seule virulente chez la souris :

4° Enfin, les souches non virulentes, saprophytes *Aquae II*, germes accompagnant souvent les suppurations chroniques d'une autre origine se révèlent absolument dénuées de toute activité pathogène pour la souris.

La virulence bactériologique des différentes mycobactéries atypiques chez la souris peut donc être considérée comme un reflet certain de leur activité pathogène naturelle.

CHAPITRE VI

VIRULENCE POUR LA SOURIS DES SOUCHES HOMOGÈNES D'ARLOING

S. ARLOING et P. COURMONT, recherchant pour le diagnostic de la tuberculose une réaction sérologique analogue au sérodiagnostic de VIDAL, utilisé dans le diagnostic de la fièvre typhoïde, essaient de trouver des souches de bacilles tuberculeux poussant dans un milieu simple de façon homogène. Ainsi, ils isolent de produits pathologiques humains et animaux des bacilles; ils les font pousser dans l'eau peptonée glycinée en les soumettant à l'agitation de façon constante. Ces souches ont perdu leur virulence pour l'animal tout en semblant conserver certaines propriétés antigéniques, comme la sécrétion de tuberculine. Injectées à très forte dose par intraveineuse au lapin, les souches entraînent la mort de l'animal. Au cours de ces dernières années, ces souches utilisées parfois pour le diagnostic de la tuberculose ont été étudiées dans un certain nombre de réactions cytochimiques et biochimiques, elles se comportent parfois comme des souches virulentes et, en d'autres cas, comme des mycobactéries atypiques; c'est pourquoi certains auteurs ont pensé qu'elles étaient à l'origine de souches atypiques à virulence atténuée. En fait, ce sont des souches de bacilles humains et bovins qui auraient modifié un certain nombre de leurs caractères. Il nous a donc paru intéressant de les inoculer à la souris pour en apprécier la virulence. Les souches homogènes humaines, Mor - Cha - SAPC et H 1036; les souches homogènes bovines Bal et aviaires AVR furent inoculées à la souris, les résultats des expérimentations sont donnés dans les tableaux suivants :

TABLEAU XIV

SOUCHES HOMOGÈNES D'ARLOING

Expérience du 2 février 1963.

- Souche Mor.
- Souris Swiss.
- Voie d'inoculation intraveineuse.

Durée de survie	ORGANES					
	Poumon		Rate		Rein	
	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture
M 72 jours	+	+	0	+	0	+

Expérience du 12 janvier 1963.

- Souche AVR.
- Souris Swiss.
- Voie d'inoculation intraveineuse.

Durée de survie	ORGANES					
	Poumon		Rate		Rein	
	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture
S 184 jours	0	+	0	0	0	0
S 184 jours	0	+	0	+	0	+
S 195 jours	0	+	0	0	0	0
S 195 jours	0	+	0	+	0	0

Expérience du 27 juin 1963.

- Souche Bal.
- Souris ML.
- Voie d'inoculation intraveineuse.

Durée de survie	ORGANES					
	Poumon		Rate		Rein	
	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture
M 28 jours	0	+	0	+	0	0
M 92 jours	0	0	0	0	0	0
M 134 jours	0	0	0	0	0	0

Expérience du 26 février 1963.

- Souche Bal.
- Souris Swiss.
- Voie d'inoculation intraveineuse.

Durée de survie	ORGANES					
	Poumon		Rate		Rein	
	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture
S 105 jours	0	0	0	0	0	0
M 105 jours	0	0	0	0	0	0
M 142 jours	0	0	0	0	0	0
M 160 jours	0	0	0	0	0	0
M 161 jours	0	0	0	0	0	0
M 163 jours	0	0	0	0	0	0
S 181 jours	0	0	0	0	0	0

Expérience du 27 février 1963.

- Souche Mor.
- Souris ML.
- Voie d'inoculation intraveineuse.

Durée de survie	ORGANES					
	Poumon		Rate		Rein	
	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture
M 39 jours	0	+	0	+	0	0
M 61 jours	0	0	0	0	0	0
M 79 jours	+	+	+	+	0	+
M 103 jours	0	0	0	0	0	0
S 103 jours	0	0	0	+	0	0
M 112 jours	0	0	+	+	0	0
M 137 jours	0	0	0	+	0	0
S 167 jours	0	0	0	+	0	0
M 176 jours	0	+	0	+	0	0

Expérience du 26 février 1963.

- Souche Mor.
- Souris Swiss.
- Voie d'inoculation intraveineuse.

Durée de survie	ORGANES					
	Poumon		Rate		Rein	
	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture
M 57 jours	0.	+	+	+	0	+
M 118 jours	+	+	0	+	0	0
M 118 jours	0	+	0	+	0	+
M 124 jours	0	+	+	+	0	+
M 124 jours	0	+	0	+	0	0
M 127 jours	+	+	+	+	0	+
S 168 jours	+	+	0	+	0	+

Expérience du 16 janvier 1963.

- Souche Cha.
- Souris Swiss.
- Voie d'inoculation intraveineuse.

Durée de survie	ORGANES					
	Poumon		Rate		Rein	
	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture
M 6 jours	0	0	0	0	0	0
S 69 jours	0	0	0	+	+	0
M 110 jours	0	0	+	0	0	0
S 210 jours	0	0	0	0	0	0

Expérience du 1^{er} mars 1963.

- Souche H 1036.
- Souris Swiss.
- Voie d'inoculation intraveineuse.

Durée de survie	ORGANES					
	Poumon		Rate		Rein	
	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture
M 8 jours	+	+	+	+	+	+
M 11 jours	+	+	+	+	0	+
S 103 jours	0	+	0	0	0	0
M 147 jours	0	0	0	0	0	0

Expérience du 9 janvier 1963.

- Souche SAPC.
- Souris PS.
- Voie d'inoculation intraveineuse.

Durée de survie	ORGANES					
	Poumon		Rate		Rein	
	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture	Exam. dir.	Culture
M 40 jours	0	+	+	+	0	0
M 76 jours	0	0	0	+	0	0
M 159 jours	+	0	+	0	0	0
S 164 jours	0	0	0	0	0	0

Souches homogènes d'Arloing.

- 9 expériences.
- 6 souches (Cha., Mor., SAPC., Bal., H 1036, AVR).
- Inoculées par voie intraveineuse à la souris blanche.

Survie	EXAMEN DIRECT						CULTURE					
	Poumon		Rate		Rein		Poumon		Rate		Rein	
	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+
0 à 132 jours :												
25 souris...	19	6	16	9	23	2	11	14	8	17	16	9
132 à 365 jrs :												
18 souris...	16	2	17	1	18		12	6	12	6	16	2

Pourcentage de positivité de l'inoculation et de positivité viscérale

	Souris +	Souris —	Poumon	Rate	Rein
0 à 132 jrs : 25 souris	19	6	78,9 %	94,7 %	52,6 %
132 à 365 jrs : 18 souris	9	9	77,7 %	77,7 %	12,2 %

La lecture de ce tableau nous permet de constater la persistance d'une virulence bactériologique certaine des souches homogènes d'Arloing étudiées sauf pour la souche Bal de l'expérience du 26 février 1963. D'autres souches, à des degrés divers, manifestent une activité pathogène réduite chez la souris, analogue à celle de certaines mycobactéries Aquae, mais la plupart conservent une virulence importante, puisque 19 fois sur 25 le bacille

est retrouvé chez l'animal inoculé. Certaines expériences, dont celle du 12 janvier 1963 avec la souche AVR et celle du 26 février 1963 avec la souche Mor, donnent des résultats totalement positifs. Les inoculations avec les souches Cha, H 1036 et SAPC sont aussi toutes positives, sauf une souris, pour chaque souche correspondant probablement à des erreurs d'inoculation.

La virulence bactériologique pour la souris des souches homogènes d'Arloing est donc peu atténuée et voisine de celle des mycobactéries *Kansasii*.

Comme avec les mycobactéries *Kansasii*, la rate paraît être le principal réservoir de bacilles, tout au moins dans les 132 premiers jours, ensuite le poumon contient aussi souvent des bacilles que la rate, le rein constitue toujours l'organe le moins riche en bacilles.

En observant ces tableaux d'une façon plus précise, étudiant séparément la virulence comparée des souches homogènes humaines, d'une part, aviaires ensuite et bovines, d'autre part, on constate les faits suivants :

Les souches humaines, Mor - Cha - H 1036 et SAPC, semblent manifester une activité pathogène importante; en effet, si nous ne tenons aucun compte des résultats négatifs, deux pour la souche Cha et la souche Mor, un pour la souche H 1036 et SAPC, les résultats des cultures de tissus spléniques sont positifs dans 97 % des cas, le tableau des inoculations de la souche Mor, des 26 et 27 février 1963, illustre bien ces faits, toutes les cultures sont positives. Le poumon est fréquemment atteint dans environ 92 % des cas, alors que le bacille est rarement rencontré dans le rein, enfin la mortalité des souris inoculées avec ces souches homogènes humaines est élevée 18/23. Les souches homogènes humaines présentent donc une virulence bactériologique importante, voisine de celle du bacille de Koch, l'activité pathogène de cette souche est au moins égale à celle des mycobactéries *Kansasii*.

La souche homogène aviaire AVR présente également une virulence bactériologique certaine. Evidemment, tous les animaux furent sacrifiés mais furent également tous positifs. D'autre part, le pourcentage de positivité du poumon atteint 100 %, toutes les cultures de ce tissu révélèrent la présence de bacilles alors que les cultures de tissus spléniques ne les mirent en évidence que dans la moitié des cas et les cultures de reins dans un cas sur quatre. On note, d'autre part, que l'ensemble des examens directs

était négatif. La souche homogène aviaire étudiée manifeste donc une certaine virulence bactériologique.

Par contre, la souche homogène bovine Bal se comporte comme les groupes de mycobactéries à virulence très atténuée chez la souris. En effet, tous les résultats des inoculations du 26 février 1963 sont restés négatifs, il fut impossible de mettre en évidence le bacille chez aucune des souris inoculées. Les résultats de l'inoculation du 27 juin 1963 sont concordants et la seule souris positive le fut seulement 28 jours après l'inoculation, passé ce délai, le bacille semble donc éliminé de l'organisme et sa mise en évidence reste sans résultat. La virulence bactériologique de cette souche paraît donc nulle.

A la vue de ces résultats expérimentaux, on constate une grande différence suivant les souches homogènes considérées lorsque l'on compare la virulence qu'elles manifestent chez la souris. Etant donné la brièveté du temps imparti, nous n'avons pu poursuivre des études expérimentales plus nombreuses et plus précises. Toutefois, les divergences dans la pathogénicité des diverses souches de bacilles homogènes étudiées apparaissent suffisamment nettement sur ces résultats expérimentaux, montrant bien qu'il ne s'agit pas d'un même groupe de bacilles « paratuberculeux », mais de mycobactéries tuberculeuses différentes qui, par suite des actions subies, ont modifié un certain nombre de leurs caractères.

CHAPITRE VII

RECHERCHE DES MYCOBACTÉRIES DANS LES VISCÈRES DES SOURIS NON INOCULÉES

On sait qu'un certain nombre d'animaux sont hôtes de mycobactéries, certains cobayes présentent spontanément une allergie tuberculinique positive, ces cobayes hébergent dans leurs ganglions des mycobactéries, on les a considérés comme des paratuberculeux; on sait que chez les bovidés on trouve également des mycobactéries saprophytes. Il était nécessaire de savoir si les examens pratiqués chez la souris avaient une valeur et si les élevages n'étaient pas contaminés spontanément avant les études expérimentales.

Les différents résultats expérimentaux furent donc précisés par une étude de témoins.

On peut penser que la présence des mycobactéries retrouvées dans les viscères de la souris correspond à une atteinte antérieure à l'inoculation, la souris pouvant être porteuse de mycobactéries naturellement; c'est pourquoi 57 souris n'ayant jamais reçu, par inoculation, de mycobactéries furent soumises à des examens et des cultures de leur poumon, rate et rein après leur mort ou leur sacrifice. Il fut impossible de mettre en évidence la présence de bacilles acido-alcoolo-résistants dans les viscères de ces souris témoins. La souris ne serait donc pas porteuse spontanément de mycobactéries et les bacilles retrouvés aux examens chez les souris inoculées sont bien les témoins d'une infection expérimentale de l'animal.

On a évoqué l'hypothèse que les souris pourraient se contaminer les unes les autres par voie aérogène et cutanée ou encore par ingestion. Les résultats expérimentaux seraient alors faussés par l'interférence de ces facteurs, certaines souris étant contaminées par d'autres malades. Nous avons donc pratiqué des expériences de cohabitation de souris non inoculées avec les animaux infectés : les deux groupes de souris préalablement marquées furent donc placés dans le même bocal et des examens et cultures des organes de témoins furent réalisés.

Les résultats de cette étude furent les suivants :

10 souris témoins furent placées dans le même bocal que les souris inoculées le 27 mars 1963 avec les mycobactéries *Kansasii*, souche Cha.

Une souris est morte.....	30 jours après le 27 mars 1963
Cinq souris sont mortes.....	80 jours après le 27 mars 1963
Deux souris sont mortes....	95 jours après le 27 mars 1963
Deux souris sont mortes....	110 jours après le 27 mars 1963

toutes les cultures, comme d'ailleurs les examens directs des viscères, poumon, rate, rein, furent négatifs.

Une souris témoin cohabitant avec les animaux inoculés par intraveineuse le 10 avril 1963 avec la souche *Aquae I*, Ben, mourut 72 jours après, il fut impossible de mettre en évidence le bacille chez ce témoin.

Dix souris témoins furent placées dans les mêmes conditions que les animaux inoculés respectivement par la souche *Aquae I*, Boi et Dec. Cette expérience de cohabitation ne permit pas de montrer de contamination des témoins par les mycobactéries *Aquae*. Ceux-ci durent être tous sacrifiés, sauf une souris morte parmi les témoins de l'expérience avec la souche Dec. et deux souris mortes parmi les témoins cohabitant avec les rongeurs inoculés avec la souche Boi. Les examens directs, ainsi que les cultures, restèrent négatifs.

Deux témoins de souris injectées par voie intraveineuse avec la souche de bacille homogène Bal. le 27 février 1963, furent sacrifiés; 108 jours après cette date, leurs viscères ne contenaient pas de bacilles.

Quatre souris témoins cohabitèrent avec des souris inoculées par voie intraveineuse avec les souches de bacilles virulents Dec. et Mek. Les quatre souris furent négatives tant à l'examen direct

qu'à la culture. Un animal mourut 100 jours et trois 125 jours après le début de l'expérience de cohabitation.

Ces expériences de cohabitation de souris témoins avec les animaux inoculés ne donnent que des résultats négatifs et les dangers dus à la contagion chez les souris d'expérience paraissent minimales, voire même nuls.

Les résultats des examens directs et des cultures de viscères de souris des expériences pratiquées correspondent donc bien directement à l'inoculation de souches de mycobactéries et le degré de virulence constaté peut être considéré comme exact.

CONCLUSIONS

Nous avons inoculé à 317 souris de races différentes, 55 souches de mycobactéries.

I. — Les souris que nous avons utilisées appartiennent à trois lignées différentes de souris blanches et à une lignée de souris grises. Les trois lignées de souris blanches, PS., ML. et Swiss se sont comportées de façon équivalente. La lignée de souris grises a paru fort sensible à l'inoculation mais les conditions techniques différentes rendent difficile l'inoculation intraveineuse.

II. — De toute façon, explorée par la voie intraveineuse ou intrapéritonéale, la virulence des mycobactéries a été superposable. Seules les voies d'inoculation intraveineuse ou intrapéritonéale permettent d'obtenir des résultats valables et constants.

III. — Les résultats de l'inoculation sont variables. On peut constater des lésions de tuberculose expérimentale visibles. Nous avons étudié avant tout ce que nous appelons : la lésion bactériologique, c'est-à-dire, la persistance et la multiplication au niveau des viscères de la souris des mycobactéries inoculées.

IV. — 951 prélèvements provenant de souris mortes ou sacrifiées ont été divisés en trois portions, une pour examen direct, deux pour ensemencement sur deux milieux de culture différents, après traitement par l'acide sulfurique pour l'une, par un ammonium quaternaire pour l'autre. Nous avons pu ainsi étudier la virulence de 9 mycobactéries tuberculeuses et de 46 non tuberculeuses.

V. — Les mycobactéries tuberculeuses humaines ou bovines donnent naissance, après inoculation intraveineuse ou intrapéritonéale, à une tuberculose expérimentale amenant la mort de l'animal. Dans la grande majorité des cas, les bacilles persistent au niveau de la rate et du poumon où l'on peut les mettre en évidence par examen direct et culture : ils y donnent des lésions de tuberculose expérimentale. Le rein, par contre, renferme moins fréquemment les bacilles tuberculeux que la rate ou le poumon.

VI. — Les souches de bacilles tuberculeux isoniazidorésistants ont dans l'ensemble une virulence diminuée. La survie est plus

longue, les lésions macroscopiques moins souvent notées. Mais il y a persistance et multiplication des bacilles isoniazidorésistants dans les viscères, en particulier au niveau du poumon et de la rate.

VII. — *Mycobactérium Kansasii* mérite une place à part, parmi les mycobactéries non tuberculeuses. Ce germe montre une activité pathogène certaine pour la souris. Si l'on tient compte des lésions bactériologiques, plusieurs mois après l'inoculation, il y a toujours des mycobactéries présentes au niveau du poumon et de la rate, moins fréquemment des reins. Tout se passe, du reste, comme si, très tardivement, les mycobactéries persistaient au niveau de la rate, plus fréquemment qu'au niveau du poumon, quant au rein, il ne renferme que transitoirement quelques mycobactéries durant les premiers mois après l'inoculation.

VIII. — *Mycobactérium aquae* se présente en réalité avec une virulence différente suivant les groupes. Les germes saprophytes, qu'ils appartiennent au groupe I ou II, ne persistent pas ou peu au niveau des viscères de la souris. Il est exceptionnel de les rencontrer tardivement en abondance dans les divers viscères. Il paraît relativement fréquent de les voir à l'examen direct, alors qu'ils ne poussent pas sur les milieux de culture comme des germes altérés par des processus immunitaires ou la phagocytose.

Par contre, des souches isolées de lésions ganglionnaires ou de thélites nodulaires des bovidés, nous ont paru présenter une virulence légèrement supérieure à celle des saprophytes.

IX. — L'inoculation à la souris de souches homogènes de S. ARLOING et P. COURMONT nous a montré que certaines de ces souches conservent une virulence équivalente à celle de *mycobactérium Kansasii*.

X. — La recherche systématique de mycobactéries chez la souris saine ou en cohabitation avec des souris inoculées ne nous a pas permis de les mettre en évidence.

XI. — L'expérimentation destinée à apprécier la valeur de la souris comme animal diagnostique de la nature tuberculeuse d'un produit biologique fut malheureusement trop restreinte, néanmoins l'inoculation à la souris, par voie intraveineuse, de liquides non surinfectés par d'autres germes doit permettre la réalisation d'une tuberculose expérimentale et l'isolement facile de la souche à partir de la rate de l'animal.

Vu :

LE DOYEN.

J.F. GIER.

Vu :

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE,

P. GIRARD.

Vu et permis d'imprimer :

Lyon, le 22 novembre 1963.

LE RECTEUR, PRÉSIDENT DU CONSEIL DE L'UNIVERSITÉ,

P. LOUIS.

BIBLIOGRAPHIE

1. BATTIGNANI C. Prove comparative di vaccinatione intatuberculare de topolino con bacilli vivi et attenuatti BCG et con bacilli uccisi col calore. Studi della faculta medica Senesi, 7 : 427-432, 1939.
2. BATTIGNANI C. et CIACCIA F. — Experimenti di vaccinatione antituberculare del topolino con bacilli uccisi et con bacilli vivi et attenuatti (BCG). Lotta contro tuberc., 12 : 132-142, 1941.
3. BARNETT M., BUSHBY SRM. et MITCHISON DA. — Isoniazid résitant Strains of tubercle bacilli. Their development and stability. Lancet, 1 : 214-320, 1953.
Tubercle bacilli resistant to isoniazid : Virulence and response to treatment with isoniazid in guinea-pigs and mice. Brit. Jour. Exp. Pathol., 34 : 568-581, 1953.
4. BENZONI G. — Recherche comparative di vaccinatione antituberculare con BCG et anatubercolina integrale nel topolino bianco. Riv. di. Pat. et clin. de Tuberc., 13 : 415-420, 1939.
5. BEQUIGNON R. — L'infection tuberculeuse de la souris blanche par voie cérébrale. C.R. Soc. Biol., 131 : 581-583, 1939.
6. BERNARD E., KREIS B. et LE JOUBIUX E. — Sur les bacilles tuberculeux de faible virulence isolés après traitement à l'INH. Revue de la tuberc., 19 : 1.113-1.114, 1955.
7. BESTA B. et LENNEBERG L. — Tuberkuloseimmuniesierungsversuche an Mäusen. Zeitschr. f. Hyg. und Infektoinkr., 117 : 7-11, 1935.
8. BETTEMBOT JM. — Existe-t-il des mycobactéries atypiques pathogènes pour l'homme ? Ont-elles des caractères particuliers ? Thèse médecine Lyon., 1961.
9. BINDER W. — Vergleichende Untersuchungen über das Verhalten der Tuberkelbazillen des Typus humanus und bovinus bei der intravenösen Infektion von weissen Mäusen. Zentralblatt. f. Bakt. Erste. Abt. Referante., 63 : 4-5, 1915.
10. BOQUET A. et NEGRE L. — Contribution à l'étude de l'infection tuberculeuse chez les petits rongeurs. Ann. Inst. Pasteur., 35 : 142-150, 1921.
11. BOQUET A., NEGRE L. et VALTIS J. — Sur l'allergie de la souris blanche et du rat tuberculeux. C.R. Soc. Biol., 97 : 1.665-1.667, 1927.
12. BLISS CL. — The calculation of the time mortality curve. Ann. Applied. Biolog., 24 : 845, 1937.

13. BLOCH H., WIDELOCK D. et PEIZER LR. — Susceptibility to isoniazid and pathogenicity of Tubercle bacilli. *Amer. Rev. Tuberc.*, 68 : 734-738, 1953.
14. BRANCH A. — A study of acid fast organisms other than mammalian tubercle bacilli isolated from disease in man. *Tubercle*, 14 : 337, 1933.
15. BRANDENBURG H. — Über die Verwendbarkeit von Mäusen in der Tuberkulose Diagnostik. *Zentralblatt. f. Bakt. Parasiten der Infekt. Krankh. Hyg. Deutsch.*, 177 : 72, 1960.
16. BRENNER W. et MAUSEN W. — Der Einfluss von Cortison auf den Ablauf des diagnostischen Tierversuche. *Zentralblatt. f. Bakt. I. Orig.*, 170 : 620, 1957.
17. BROWNING CH. et GULBRANSEN R. — Studies of experimental tuberculosis in mice. The susceptibility of mice to inoculation with tubercle bacilli. *J. of Hygiene*, 25 : 323-332, 1926.
18. CALMETTE A. — L'infection bacillaire et la tuberculose chez l'homme et chez les animaux. Masson et Cie, éditeurs, Paris, 1921 (4^e éd. revue par Boquet et Nègre, 1936).
19. CANETTI G., GRUMBACH F. et GROSSET J. — An. increased effect with increased dosage of INH in experimental tuberculosis. *Am. Rev. tub. and resp. disease*, 82 : 295, 1960.
20. CERIOTTI G. — On the quantitative evaluation of the activity of antituberculous drugs in experimental mouse tuberculosis. *Am. Rev. Tub.*, 69 : 105, 1954.
21. COBBET L. — The causes of tuberculosis. Cambridge, 1917.
22. COHN ML., KOVITZ C., ODA U. et MIDDLEBROOK G. — Studies on isoniazid and tubercle bacilli. *Am. Rev. tub.*, 70 : 641, 1954.
23. COHN ML. et MIDDLEBROOK G. — Attenuation of isoniazid resistant mutants of tubercle bacilli and host hypersensitivity to tuberculin. *Proc. Soc. Exp. Biol. et med.*, 88 : 68, 1955.
24. DE JONG DA. — La tuberculose humaine et celle des animaux sont-elles dues à la même espèce microbienné que le bacille de Koch. II^e Congrès int. d'Hyg. et Derm., Bruxelles, 1902.
25. DEMAY DE GOUSTINE F. — Contribution à l'étude des caractères antigéniques des mycobactéries atypiques. Thèse médecine Lyon, 1962.
26. DEVULDER B. — Les infections humaines à mycobactéries dites atypiques. Thèse médecine Lille, 1962.
27. DONOVICK R., Mc KEE CM., JAMBOR WP. et RAKE G. — The use of the mouse in a standardized test for antituberculous activity of compounds of natural or synthetics origin. II choice of mouse strain. *Am. Rev. Tub.*, 60 : 109, 1949.
28. DUBOS RJ. — The effect of metabolic factors on the susceptibility of albino mice to experimental tuberculosis. *J. exp. med.*, 101 : 59, 1955.
29. DUBOS RJ. et PIERCE CH. — The effect of diet on experimental tuberculosis of mice. *Am. rev. tub.*, 47 : 287, 1948.

30. DUBOS RJ., PIERCE CH. et SCHAEFER WB. — Differential characteristics in vitro and in vivo of several substrains of BGG : I. Multiplication and survival in vitro; II. Morphologie characteristics in vitro and in vivo; III. Multiplication and survival in vivo; IV. Immunizing effectiveness. *Am. rev. tub.*, 74 : 655 à 717, 1956.
31. DUBOS RJ. et SCHAEGLER RW. — Reversible changes in the susceptibility of mice to the bacterial infections. *J. exp. med.*, 104 : 53-67, 1956.
32. DUBOS RJ. et SCHAEFER WB. — Antituberculosis immunity induced in mice by virulent primary infection. *Am. rev. tub.*, 74 : 541, 1956.
33. DUMAS J. — Les animaux de laboratoire. Collection de l'Institut Pasteur. Ed. med., Flammarion, Paris, 1953.
34. DURR FE., SMITH DW. et ALTMAN DP. — A comparison of the virulence of various known and atypical mycobacteria for chicken, guinea pigs, hamster and mice. *Am. rev. tub. and respiratory disease*, 80 : 876, 1959.
35. FAVOUR CB. — Effect of adrenalectomy on tuberculin reaction in mice. *Proc. Soc. Exp. Biol. et Med.*, 85 : 237-239, 1954.
36. FELDMAN WH. et KARLSON AG. — *Mycobacterium ulcerans* infections. *Am. rev. tub.*, 75 : 266, 1957.
37. FENNER F. — The pathogenic behavior of *mycobacterium ulcerans* and *mycobacterium balnei* in the mouse and the developing chick embryo. *Am. rev. tub.*, 73 : 650, 1956.
38. FENNER F. — Homologous and heterologous immunity in infections of mice with *mycobacterium ulcerans* and *balnei*. *Am. rev. tub.*, 76 : 77, 1957.
39. FENNER F., MARTIN SP. et PIERCE CH. — The enumeration of viable tubercle bacilli in cultures and infected tissues. *Am. New-York, acad. sc.*, 52 : 751, 1949.
40. GALE D., DE VESTY G. et JACK A. — A rapid mouse test for the diagnosis of pulmonary tuberculosis : I. The enhancement of experimental tuberculosis in mice by hog gastric mucin; II. Preliminary studies with patients' specimens. *Am. rev. tub.*, 77 : 1.005-1.012, 1958.
41. GALE D. et ELBERG S. — Studies on enhancement of bacterial infection by hog gastric mucin. *J. inf. disease*, 91 : 50, 1952.
42. GALE D. et HENTEL W. — Studies of anonymous mycobacteria : I. The pathogenicity of an acid fast photochromogen in vivo response and morphologic studies of a photochromogen. *Am. rev. tub. and pulmonary disease*, 83 : 718, 1961.
43. GALE D. et LOCKHART EA. — A rapid mouse test for diagnosis of pulmonary tuberculosis III. validation of the test with specimens from 1000 patients. *Am. rev. tub. and respiratory disease*, 81 : 715, 1960.
44. GASTINEL P., VAISMAN A. et DUNOYER F. — A propos de la tuberculose expérimentale de la souris. C.R. à la Soc. Biol., 150 : 237-239, 1956.

45. GERNEZ-RIEUX CH., TACQUET A. et HOUCKE E., FABRE M., GERARD A. et VOISIN C. — Virulence pour le cobaye, le lapin, la souris et le hamster des bacilles tuberculeux résistants à l'isoniazide. *Ann. Inst. Pasteur de Lille*, 6 : 1 à 35, 1953-54.
46. GERNEZ-RIEUX CH., TACQUET A., VOISIN C. et FABRE M. — Virulence pour le cobaye, la souris et le hamster des bacilles résistants à l'isoniazide. *Rev. tub.*, 19 : 1 à 25, 1955.
47. GERNEZ-RIEUX CH., TACQUET A. et MACQUET V. — Etude du pouvoir pathogène pour l'animal des mycobactéries atypiques. Influence du virus grippal et du quartz sur l'infection expérimentale. *Ann. Inst. Pasteur de Lille*, 10 : 9, 1958-59.
48. GERTL B. et THOMAS RM. — Experimental tuberculosis in mice. *Yale J. Biol. et Med.*, 13 : 679, 1940-41.
49. GLOVER RE. — Infection of mice with mycobacterium tuberculosis by the respiratory route. *Brit. J. exp. path.*, 25 : 141, 1944.
50. GOULDING R., KLING MB., KNOX R. et ROBSON JM. — Relations between in vitro and in vivo resistance to isoniazid. *Lancet*, 2 : 69-70, 1952.
51. GRAY DF., CLARKE BL. et MATTINSON MW. — Animals and cultures in detection of *M. tuberculosis*. *Am. rev. tub.*, 69 : 92, 1954.
52. GRAY DF. et JENNING PA. — Allergy in experimental mouse tuberculosis. *Am. rev. tub.*, 72 : 171, 1955.
53. GRAY DF., MATTINSON MW. — Detection of small numbers of tubercle bacilli from dispersed culture using mice, guinea pigs and artificial media. *Am. rev. tub.*, 65 : 573, 1952.
54. GRIFFITH AS. et GRIFFITH F. — Royal commission on tuberculosis second interim report 1907. Part. II, appendix 1, 493; appendix 2, 1198. And final report 1911, part. II, appendix 5, 205.
55. GRUMBACH F. — La souris animal de diagnostic pour différencier les souches de bacilles tuberculeux avirulentes ou de virulence atténuée pour le cobaye. *Ann. Inst. Pasteur*, 97 : 453-462, 1959.
56. GRUMBACH F. — Bulletin de l'Union Internationale contre la tuberculose. 28 : 169, 1958; 29 : 85, 1959.
57. GRUMBACH F. et RIST N. — La virulence pour la souris des souches de mycobactérium tuberculosis résistantes à l'isoniazide. *Libro de actas*, I, 398. 13^e conférence de l'Union internationale contre la tuberculose, Madrid, 1954 (2-10-54).
58. GRUNBERG E. — Minutes of the meet of the ameri. assoc. for adv. of Science. 1952, Saint-Louis.
59. GUNN FD., NUNGESTER WJ. et HOUGEN ET. — Susceptibility of the white mouse to tuberculosis. *Proc. Soc. exp. Biol. and med.*, 31 : 527-528, 1933-34.
60. HART P., LONG DA., REES RJW. — Depression of tuberculin sensitivity in guinea pigs by certain antituberculosis surface active agents. *Brit. med. J.* 1 : 680, 1952.

61. HAUDUROY P. — Inventaire et description des bacilles paratuberculeux. Ed. Masson, Paris, 1946.
62. HEHRE E. et FREUND J. — Sensitization antibody formation and lesions produced by tubercle bacilli in the albino rat. Arch. path., 27 : 289-306, 1939.
63. HERMMET-HALSWICK A. — Über eine Lepra älmliche Erhrankung bei Mäusen. Arch. f. tierk., 67, 1934.
64. HIRSCH J. — Zur experimentellen Chemotherapie der Isonicotin saür hydrazid (INH) resistenten tuberkulose. Naturwissensch., 39 : 525, 1952.
65. HIRSCH J. — Über einen immunbiologischen Effekt der Chemotherapie bei der experimentellen Mäuse Tuberkulose. Naturwissensch. 40 : 490, 1953.
66. HOBBY GL., LENERT TF. et AUERBACH O. — The immunizing properties of an isoniazid resistant mutant of vallee strain of M. tuberculosis as compared with BCG observations in the mouse and the guinea pig. Am. rev. tub., 70 : 527, 1954.
67. HOYT A., DERMERLING RL., MOORE FJ. et SMITH R. — Tubercle bacillus wax an experimental vaccine against mouse tuberculosis. Am. rev. tub., 76 : 752, 1957.
68. JESPERSEN A. — Antituberculous immunity induced in red mice by vaccination with living BCG. Acta path. and microb. scandinavica, 35 : 396, 1954.
69. KARLSON AG et IKEMI Y. — Effect of isonicotinic acid hydrazine on survival time of mice infected with tubercle bacilli resistant to the drug in vitro. Proc. Staff. Meet. Mayo-Clinic, 27 : 373, 1952.
70. KARLSON AG et IKEMI Y. — Comparison of the virulence for mice and guinea pigs of an isoniazid sensitive tubercle bacillus and its isoniazid-resistant variant. Proc. Staff. Meet. Mayo-Clinic, 29 : 119, 1954.
71. KATO M., MIKI K., MATSUNAGA K. — On the survival and multiplication of pathogenic and non pathogenic strain of humain tubercle bacilli in whole tissues and various organs of mice. Kekkaku, 30 : 666-667, 1955.
72. KATO M., MIKI K. et MATSUNAGA K. — The effect of the route of infection on the pathogenicity of tubercle bacilli for mice. Kekkaku, 31 : 171-175, 1956.
73. KIRCHHEIMER WF. et MALKIEL S. — Tuberculin shock in mice infected with tubercle bacilli. Am. rev. tub., 68 : 629-630, 1953.
74. KOCH R. — Die Aetiologie der Tuberkulose. Mitt a. d. K. gesundheitsamte Berlin, 2 : 66, 1884. Gesammelte Werke, Leipzig, 1 : 537-552, 1912.
75. KOCH A. et RABINOWITSCH L. — Der Tuberkulose der Vogel und ihre Beziehungen zur Säugetier-tuberkulose. Virchow's Archiv. 190, 1907; Beiheft zu Band, 246-363.
76. KUSHNER DS., Mc. MILLEN et SENDERI M. — Atypical acid fast bacilli bacteriologies characteristics and pathogenicity for laboratory animals (mycobacterium forfuitum). Am. rev. tub., 76 : 108, 1957.

77. LANGE B. — Untersuchung über die experimentelle Tuberkulose bei weissen Mäusen. Zeitschr. f. hyg. und infektionkr., 98 : 229-242, 1922.
78. LANGE B. — Zur Frage der Virulenz der bei Menschlicher und Tierischer Tuberkulose vorkommenden Tuberkelbazillen Versuche an Mäusen. Zeitschr. f. tuber. 57 : 129, 142, 209, 228, 1930.
79. LE JOUBIOUX E. — Virulence des bacilles de Koch provenant de tuberculeux pulmonaires traités par les antibacillaires (Streptomycine, INH, PAS.). Thèse médecine, Paris, 1955.
80. LEVADITI JC., VAISMAN A. et LEVY P. — Etude expérimentale de la vaccination par le BCG, 312; Preuve expérimentale du pouvoir vaccinant du BCG chez la souris, 664; Durée de persistance du BCG dans le poumon, la rate et le foie des souris contaminées par voie intraveineuse. Dispersion du BCG chez la souris inoculée par voie intrapéritonéale et vasculaire, 359. C.R. Soc. Biol., 143, 1949.
81. LONG ER. — Experimental mouse tuberculosis. J. Bact. 27 : 102-103, 1934.
82. LONG ER. et VOGT AB. — Relation of sex to the course of experimental tuberculosis in mice. Am. rev. tub. 44 : 196-222, 1941.
83. MAC CUNE RM. et TOMPSETT R. — Fate of mycobacterium tuberculosis in mouse tissues as determined by the microbial enumeration technic. I. The persistence of drug susceptible tubercle bacilli in the tissue despite prolonged antimicrobial therapy. J. exp. med., 104 : 737, 1956.
84. MAC CUNE RM., TOMPSETT R. et MAC DERMOTT W. — II. The conversion of tuberculous infection to the latent state by administration of pyrazinamide and a companion drug. J. exp. med., 104 : 763, 1956.
85. MAC CUNE RM., LEE SH., DEUTSCHLE K. et MAC DERMOTT W. — Ineffectiveness of isoniazid in modifying the phenomenon of microbial persistence. Am. rev. tub., 76 : 1406, 1957.
86. MAC KAUFEN GB., SMITH M. et WELLS AG. — The growth of intracellular tubercle bacilli in relation to their virulence. Am. rev. tub., 69 : 479, 1954.
87. MAC KEE C., RAKE G., DONOVICK R. et JAMBOR WP. — The use of the mouse in a standardized test for antituberculous activity of compounds of natural or synthetic origin. Am. rev. tub., 60 : 90, 1949.
88. MAC MILLEN S. et KUSHNER DS. — Atypical acid fast bacilli an expanded schema. Am. rev. tub., 80 : 434-437, 1959.
89. MARMOREK A. — Beitrag zur Kenntnis der Virulenz der Tuberkelbazillen. Berlin Klin. Wochenschrift, 43 : 328, 12 mars 1906.
90. MARTIN AR. — The use of mice in the examination of drugs for chemotherapeutic activity against mycobacterium tuberculosis. J. path. and Bact., 58 : 580-585, 1946.
91. MEUNIER G. — La souris blanche, principaux aspects biopathologiques de son comportement. Thèse vétérinaire, Lyon, 1952.

92. MIDDLEBROOK G. — An apparatus for airborne infection in mice. *Proc. soc. biol. and med.*, 80 : 105, 1952.
93. MIDDLEBROOK G. et COHN ML. — Some observations on the pathogenicity of isoniazid resistant variants of tubercle bacilli. *Science*, 118 : 298-299, 1953.
94. MIDDLEBROOK G., DUBOS RJ. et PIERCE CH. — Virulence and morphological characteristics of mammalian tubercle bacilli. *J. exp. med.*, 86 : 175, 1947.
95. MILZER A. et LEVINES ER. — A rapid mouse test for laboratory diagnosis of tuberculosis. *Proc. soc. exp. biol. and med.*, 69 : 16, 1948.
96. MILZER A. et LEVINES ER. — *J. lab. and clin. med.*, 37 : 803, 1951.
97. MIZUNOE K., KIM YH., TEZUKA T., IWASHITA I. — Studies on the virulence of tubercle bacilli. *Kekkaku*, 31 : 384, 1956.
98. MORSE WC., WEISER OL., KUHN DM., FUSILLO M., DAIL MC. et EVANS JR. — Study of the virulence of isoniazid resistant tubercle bacilli in guinea pigs and mice. A preliminary report. *Am. rev. tub.*, 69 : 467-468, 1954.
99. NOUFFLARD H. — Traitement par l'INH à différentes doses d'une tuberculose expérimentale très avancée chez la souris, influence des doses élevées. *C.R. à la Soc. biol.*, 148 : 1.757, 1954.
100. NOUFFLARD H. — Etude de la virulence des bacilles tuberculeux résistants à l'isoniazide. *Ann. Inst. Pasteur*, 88 : 325-335, 1955.
101. NOUFFLARD H. et BERTEAUX S. — A slide culture method for tubercle bacilli in the lesions of mice. *Am. rev. tub.*, 72 : 330, 1955.
102. NOUFFLARD H. et BERTEAUX S. — Utilisation de la souris pour le diagnostic bactériologique de la tuberculose, application à l'étude rapide de la sensibilité aux médicaments. *Rev. Franc. études clin. et biol.*, N° 8, 3; I : 869-876, 1956.
103. OPIE EL. et FREUND J.J. — An experimental study of protective inoculation with heat killed tubercle bacilli. *J. exp. med.*, 66 : 761-788, 1937.
104. PAGEL W. — Experimental tuberculosis observation on tissue reaction and natural resistance. *Am. rev. tub.*, 42 : 58, 1940.
105. PANISSET M. et BENOIT JC. — Survie et multiplication du BCG et du bacille tuberculeux chez la souris en fonction du temps. *Ann. Inst. Pasteur*, 97 : 437-465, 1959; *Am. rev. tub.*, 81 : 803, 1960.
106. PETER SE. — Zur Pathogenität der Tuberkelbazillentypen bei Mäusen. *Zentralblatt f. bakt. abt. I orig.*, 62 : 243, 1912.
107. PIERCE CH. DUBOS RJ. — Morphological characteristics and behaviour in vivo of various substrains of BCG. *Tubercle*, 36 : 105, 1955.
108. PIERCE CH., DUBOS RJ. et MIDDLEBROOK G. — Infection of mice with mammalian tubercle bacilli grown in tween albumin liquid medium. *J. exp. med.*, 86 : 159, 1947.

109. PIERCE CH., DUBOS RJ. et MIDDLEBROOK G. — Infection of mice with tubercle bacilli grown in tween albumin liquid medium. *Proc. soc. exp. biol. med.*, 64 : 173-174, 1947.
110. PIERCE CH., DUBOS RJ., SCHAEFER WB. — Multiplication and survival of tubercle bacilli in the organs of mice. *J. exp. med.*, 97 : 189-205, 1953.
111. PIERCE CH., DUBOS RJ., SCHAEFER WB. — Antituberculosis immunity induced in mice vaccinated with killed tubercle bacilli. *J. exp. med.*, 97 : 221-234, 1953.
112. PIERCE CH., DUBOS RJ. et SCHAEFER WB. — Antituberculosis immunity induced in mice by vaccination with living cultures of attenuated tubercle bacilli. *J. Exp. Med.*, 97 : 207-249, 1953.
113. POLLAK A. et BUHLER WB. — The cultural characteristics and animal pathogenicity of an atypical acid fast organism which causes human disease. *Am. rev. tub.*, 71 : 74, 1955.
114. PRESCOTT B., KAUFMAN G. et JAMES W. — Means of increasing the tolerable of INH in mice. *Proc. Soc. exp. biol. and med.*, 95 : 687, 1957.
115. RAKE G., JAMBOR WP., MAC KEE C., PANSY F., WISELOGLE FY et DONOVICK R. — The use of the mouse in a standardized test for antituberculous activity of compounds of natural or synthetic origin. III. The standardized test. *Am. rev. tub.*, 60 : 121, 1949.
116. REES RJW., ROBSON JM. — *Brit. J. pharmacol.*, 5 : 77, 1950.
117. RIST N., GRUMBACH F., LIBERMANN C. et LEVADITI JC. — Sur le pouvoir pathogène des bacilles tuberculeux, isoniazidorésistants. *Rev. tuber.*, 19 : 659, 1955.
118. ROMER PH. — Tuberkelbazillen stämme. *Beitr. Zeit. experim. therapie, Marbourg*, 6 : 1 à 110, 1903. *Zentrallblatt. f. Bakt.*, 33 : 348, 1903.
119. RUNYON EH. — *Bul. un. int. contre la tuberculose*, 29 : 72, 1959.
120. SAENZ A. et COSTIL L. — Propriétés pathogènes pour la souris des variantes dissociées R et S du bacille aviaire. *C.R. Soc. biol.*, 116 : 836-838, 1934.
121. SCHWABACHER H. et WILSON GS. — Vaccination of mice against tuberculosis with killed cultures and with living BCG. *Tubercle*, 18 : 492-498, 1937.
122. SCHWABACHER H., WILSON GS. et HERTA. — The inoculation of minimal doses of tubercle bacilli into guinea pigs, rabbits and mice. *Tubercle*, 18 : 1, 1936-37.
123. SELLARDS MAW. et PINKERTONE H. — Résumé d'expériences sur la propagation de la lèpre murine à des animaux considérés comme réfractaires. *Bul. Soc. path. exot.*, 29 : 847, 1936.
124. SEVER JL. et YOUNG GP. — The enumeration of nonpathogenic viable tubercle bacilli from the organs of mice. *Am. rev. tub.*, 75 : 280, 1957.
125. SIEBENMAN CHO. — Effect of BCG vaccination and chemotherapy on experimental tuberculosis in mice. *J. immunol.*, 67 : 137, 1951.

126. SMITHBURN KC. — The standardization of longevity against dose in experimental tuberculosis by intracerebral inoculation. J. exp. med., 64 : 771-790, 1936. Virulence of bovine tubercle bacilli. Am. rev. tub., 36 : 637-658, 1937.
127. SNELL GD. — Biology of the laboratory mouse. Dover publications, New-York, 1956.
128. SOLOTOROVSKY M., ROBINSON HJ. et KNAZUK M. — Design and operation of a laboratory of experimental tuberculosis. Am. rev. tub., 68 : 212-219, 1953.
129. SOLOTOROVSKY M., STOERK HC. et IRONSON EJ. — Virulence of atypical acid fast organisms for mice, paper presented at a symposium on atypical mycobacteria session 2 B - 53 Rd animal meeting of american Trudeau Society, 1957.
130. STAMATIN N. et STAMATIN L. — Virulence des trois types de bacilles tuberculeux pour la souris blanche. Ann. Inst. Pasteur, 63 : 269-291, 1939.
131. STAMATIN N. et STAMATIN L. — Virulence des trois types de bacilles tuberculeux pour la souris blanche. C.R. Soc. Biol., 131 : 511-514, 1939.
132. STEENKEN W., SMITH M. et MONTALBINE V. — In vivo and in vitro effect of antimicrobial agents on atypical mycobacteria. Am. rev. tub., 78 : 454, 1958.
133. STEWART GT. et TOMARGO-SANCHEZ M. — An experimental basis for estimating the virulence of tubercle bacilli. J. Hyg., 50 : 37, 1952.
134. STRAUSS I. — La tuberculose et son bacille. Rueff & Cie, Paris, 1895.
135. SWEDBERG B. — The white mouse experimental tuberculosis. Acta tuberc. Scandinavica, 22 : 260-272, 1948.
136. SWEDBERG B. — Studies in experimental tuberculosis an investigation of some problems of immunity and resistance. Acta medica Scandinavica, 139 : supplément 250-254, 1 à 106, 1951.
137. SWEDBERG B. et WIDSTROM G. — Treatment of experimental tuberculosis in mice and guinea-pigs. Acta medica, Scandinavica, 131 : 116-128, 1948.
138. SZABO SZUCSJ. — Untersuchungen zur Bestimmung der Virulenz und tuberkuln-erzeugung Fähigkeit von Tuberkelbakteriens-tämmen. Acta vet acad. Sci. Hung. Budapest, 6 : 167-174, 1956.
139. TACQUET A., TISON F., MACQUET V. — Technique récente d'iden-tification des mycobactéries. Ann. Inst. Pasteur, Lille, 10 : 213-230, 1958-59.
140. TOLHURST JC. et BUEKLE G. — Experimental investigations in laboratory animals. J. path. and Bact., 60 : 102, 1948.
141. TROISIER J. et SIFFERLEN J. — L'infection pulmonaire immédiate par instillation nasale de BCG sous anesthésie générale chez la souris, phagocytose simultanée par la cellule alvéolaire. C.R. Soc. Biol., 133 : 636-639, 1940.
142. TROMMSDORF R. — Über intravenöse Impfungen mit Menschen und Rindertuberkelbazillen bei Mäusen. Arbeit a d KK Gesun-dheitsamte, 32 : 568-573, 1909.

143. VALTIS J. — Sur l'infection tuberculeuse de la souris blanche. C.R. Soc. Biol., 97 : 1.663-1.665, 1927.
 144. VIALIER J., CAYRE RM. et LANERY R. — Valeur et résultats de l'inoculation à la souris de mycobactéries. Bull. de la Soc. des Sciences Vétérinaires de Lyon, 65, 2 : 87, 1963.
 145. WALLACE JG. — The heat resistance of tubercle bacilli in the lungs of infected mice. Am. rev. tub., 83 : 866, 1961.
 146. WEBER A. — Zur Tuberkulose des Menschen und der Tiere. Zentralblatt. f. Bakt. I Orig. 64 : 243-265, 1912.
 147. WEBER A. et BOFINGER. — Tub. Arbeit a d K. Gesundheitsamte. fasc. 1 : 83, 1904.
 148. WIDELock D., PEIZER LR., KLEIN S. — Public health significance of tubercle bacilli resistant to isoniazid. Am. J. public Health, 45 : 79-83, 1955.
 149. WIDSTROM G. — Vaccination av moss med. tuberkelbakterier. Nord. Med., 36 : 2.153-2.155, 1947.
 150. WOLINSKY E. — Chemotherapy and pathology of experimental photochromogenic mycobacterial infections. Am. rev. tub., 80 : 523, 1959.
 151. WOLINSKY E., SMITH MM., MITCHELL RS. et STEENKEN W. — Atypical chromogene mycobacteria associated with pulmonary disease. Am. rev. tub., 75 : 180, 1957.
 152. YAMAMURA Y., KATO M., IKUTA S., OKUYAMA T. et WANTA-NABE S. — A homogenate technic of whole body of mice. Med. J. Osaka, univer., 6 : 504, 1955.
 153. YAMAMURA Y., TANI J. et TERA I. — Studies on the pathogenicity of acid fast bacilli with P 32. Kekkaku. 31 : 58-59, 1956.
 154. YOU MANS GP. et MAC CARTER JC. — Streptomycin in experimental tuberculosis. The effect on tuberculosis infections in mice produced by mycobacterium tuberculosis var hominis. Am. rev. tub., 52 : 432, 1945.
 155. YOU MANS GP., MILLMAN I. et YOU MANS AS. — The immunising activity against tuberculous infection in mice of enzymatically active particles from extracts of mycobacterium tuberculosis. J. Bact., 70 : 557, 1955.
 156. YOU MANS GP. et RALEIGHT GW. — The use of mice in experimental chemotherapy of tuberculosis. I. Rationale and review of the litterature; II. Pathology and pathogenesis. J. inf. disease, 82 : 197-205, 1948.
 157. YOU MANS GP. et YOU MANS AS. — Relation between the size of the infecting dose of tubercle bacilli and survival time of mice. Am. rev. tub., 64 : 532-541, 1951.
 158. YOU MANS GP. et YOU MANS AS. — Response of mice to standard infecting doses of mycobacterium tuberculosis var hominis. Proc. Soc. exp. biol. and med., 90 : 238-240, 1955.
-

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
AVANT-PROPOS	1
HISTORIQUE	3

CHAPITRE PREMIER

La souris, animal de laboratoire.....	13
A) Les races de souris sélectionnées.....	13
B) Les modalités de reproduction de la souris.....	15
C) Le logement des souris.....	15
D) Les problèmes de la nourriture.....	17
E) Le marquage des animaux.....	18
F) Le problème de la contention.....	18

CHAPITRE II

La tuberculose expérimentale de la souris.....	21
A) Les voies d'inoculation.....	21
B) Les bacilles injectés.....	26
C) Les effets pathogènes du bacille de Koch chez la souris.....	29
D) Notre expérimentation d'inoculation de bacilles bovins à la souris.....	36
E) Le problème de l'allergie tuberculinique de la souris..	40
F) La souris, animal-diagnostic de la tuberculose.....	41

CHAPITRE III

La tuberculose de la souris par bacilles résistants à l'isoniazide	46
---	-----------

CHAPITRE IV

Virulence pour la souris des souches BCG.....	59
--	-----------

CHAPITRE V

Virulence pour la souris des mycobactéries atypiques	63
A) Rappel historique	63
B) Virulence de <i>Mycobacterium avium</i>	66
C) Notre expérimentation	67

CHAPITRE VI

Virulence pour la souris des souches homogènes d'Arloing	95
--	----

CHAPITRE VII

Recherche des mycobactéries dans les viscères des souris non inoculées	103
CONCLUSIONS	107
BIBLIOGRAPHIE	111

